Проблема митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии

А. А. Гурвич

АННА АЛЕКСАНДРОВНА ГУРВИЧ

Проблемы митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии

В монографии излагается основной фактический материал по проблеме митогенетического излучения, открытого профессором А. Г. Гурвичем в 1923 г.

Проблема митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии

А. А. Гурвич

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР



ИЗДАТЕЛЬСТВО „МЕДИЦИНА" ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
1968

УДК 612.014.483 : 577.23

Гурвич А. А. Проблема митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии, 14 л.

В монографии излагается основной фактический материал по проблеме митогенетического излучения, открытого профессором А. Г. Гурвичем в 1923 г.

В специальной главе рассматривается механизм возникновения излучения, основанный на рекомбинациях свободных радикалов.

В последующих главах рассматривается вопрос о биологическом значении излучения. Митогенетическое излучение является обязательным звеном в цепи процессов, приводящих клетку к делению, оно предшествует первым фазам митоза и может быть зарегистрировано па синхронно делящихся клетках в виде «премитотической» вспышки. Следовательно, энергетическая роль фотонов митогенетического излучения в процессе клеточного деления нормальных и малигнизирующихся тканей очень существенна.

Спектральный анализ митогенетического излучения является тонким индикатором функциональных состояний нервной и мышечной систем, включая и сердечную мышцу. Характеризуя некоторые структурно-энергетические параметры молекулярного субстрата, спектры позволяют составить представление о связи лабильных молекулярных структур субстрата с функциональными состояниями.

В монографии рассматривается концепция А. Г. Гурвича о специфическом для живых систем неравновесно-упорядоченном состоянии молекулярного субстрата. Значительное место уделено изложению общебиологических представлений А. Г. Гурвича, подводящих к этой концепции и к теории биологического поля. Достаточно подробно изложены и основные положения теории поля

Необходимость анализа биологических явлений с точки зрения непрерывного сопряженного взаимодействия различных уровней — системного, клеточного, молекулярного, — вытекающая из этих биологических построений, обосновывается разнообразными фактическими данными и позволяет рассматривать проблему митогенеза как одно из принципиальных направлений молекулярной биологии.

В книге приводится также основной материал, характеризующий «раковый тушитель» митогенетического излучения, на примере которого видно практическое значение теоретических и экспериментальных исследований проблемы митогенеза.

В книге имеется 51 таблица, 35 рисунков, библиография — 108 названий.

Издание одобрено и рекомендовано к печати Редакционыо-издательским советом при Академии медицинских наук СССР

5-3-1
52-68

Предисловие

Одним из крупных достижений советской теоретической биологии является открытие покойным А. Г. Гурвичем феномена митогенетического излучения. В органической связи с этим открытием в результате многолетнего упорного анализа процессов эмбриогенеза им была создана теория биологического поля.

В свете современных достижений молекулярной биологии взгляды А. Г. Гурвича приобретают новый интерес и с точки зрения понимания сути химических (биохимических) и энергетических реакций, протекающих на уровне молекул, и с точки зрения взаимоотношений явлений молекулярного уровня с высшими иерархическими уровнями организма, как клеточным, так и охватывающим организм как целое.

В монографии доктора биологических наук А. А. Гурвич — дочери и продолжательницы идей А. Г. Гурвича— в сжатой форме изложены его представления о сущности и биологическом значении митогенетического излучения и основные положения теории биологического поля. Вместе с тем она творчески дополнила эти материалы итогами собственных многочисленных исследований, в значительной степени углубившими представления и теоретические обобщения и показавшими большое значение идей А. Г. Гурвича для современной молекулярной биологии. В этом, с моей точки зрения, заключается ценность и интерес труда А. А. Гурвич, который с большой пользой прочтут не только специалисты по молекулярной биологии, но и многие биохимики, биофизики, общие биологи, физиологи, патофизиотоги, любознательные студенты биологических и медицинских высших учебных заведений

Действ. чл. АН СССР *В. В. Парин*

От автора

Учение о митогенетическом излучении излагается в виде монографий в шестой раз, начиная с 1932 года. Структура предшествующих книг, авторами которых являлись А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич — создатели всего направления исследований, менялась в зависимости от поставленных целей. В двух первых изданиях (1932, 1934 гг.) излагалась, по существу, вся совокупность знаний в новой тогда области. В последующих (1945, 1959 гг.) давалась исчерпывающая трактовка нескольких основных направлений проблемы митогенеза. В 1948 г. авторы дали в небольшой монографии введение в учение о митогенезе, излагающее необходимые основы для более подробного ознакомления.

Настоящая небольшая монография построена аналогично изданиям 1945, 1959 годов, т. е. дает возможно более полное изложение современного состояния отдельных вопросов. При этом большой упор сделан на описание фактов, характеризующих молекулярный субстрат живых систем, и на их трактовку, вытекающую из общебиологических представлений А. Г. Гурвича. Именно поэтому в книгу введена глава, рассматривающая предпосылки теории биологического поля, созданной А. Г. Гурвичем, и основные положения этой концепции.

Такой характер монографии обусловливает и данное ей заглавие, — митогенез, несомненно, является одним из направлений широко рассматриваемого понятия «молекулярной биологии».

Все данные последних лет, изученные как методом биологической детекции излучения, так и путем регистрации излучения на чувствительных фотоэлектронных умножителях, могли быть получены только благодаря тесной совместной работе с сотрудниками лаборатории В. Ф. Еремеевым и Ю. А. Карабчиевским, которым приношу за это большую благодарность.

А. А. Гурвич.

Введение

Длительное разностороннее изучение проблемы митогенетического излучения позволило уже лет тридцать тому назад поставить вопрос о его биологическом значении. Биологическое значение излучения — ясного по своей физической природе явления — двояко по своему смыслу. Ультрафиолетовые фотоны играют роль энергетических факторов высокого потенциала, значительно превышающих по своему уровню макроэргические связи. При их поглощении молекулами возникают не только первичные элементарные акты (диссоциация молекул, ионизация, возбуждение), но и вторичные последствия, развивающиеся в биологических субстратах в виде цепных процессов.

Наряду с этим, излучение дает сведения о чрезвычайно лабильных структурных состояниях молекулярного субстрата, позволяя сопоставить их изменения с физиологической сменой функциональных состояний.

Ультрафиолетовое излучение очень малой интенсивности (несколько десятков тысяч фотонов $/см^2/сек$) вызывает в соответствующих субстратах разветвленные цепные химические процессы.

Эти явления лежат в основе стимуляции клеточных делений, т. е. оказывают «митогенетическое» действие.

Задачи, ставящиеся при изучении молекулярных процессов на живых системах методом излучения, отличаются от постановок вопросов, характеризующих современные генетические и биохимические исследования, авторы которых видят прямую зависимость вторичных и третичных молекулярных (белковых) структур от химического строения первичных цепей, г. е. держатся в своих построениях исключительно в пределах молекулярного уровня.

А. Г. Гурвич видел, напротив, сущность задачи в изу^ чении взаимоотношений молекулярного уровня с вышестоящими— клеточным уровнем и уровнем целого организма. Истоками такого подхода являлись результаты

долголетнего последовательного анализа процессов эмбриогенеза, заставившие А. Г. Гурвича прийти к выводу о необходимости допущения непрерывного регулирующего («нормирующего») действия целого на пространственные параметры поведения клеток.

Принципы теории биологического поля были построены именно на этой основе.

Возможность анализа молекулярных процессов на живых объектах при помощи митогенетического излучения позволила прийти к следующему выводу. Представление о молекулярных структурах, специфичных для живых систем, должно быть расширено по существу: наряду с равновесными структурами любой степени устойчивости необходимо допустить существование неравновесной молекулярной упорядоченности[1].

Это значит, что какая-то статистически постоянная доля высокомолекулярных элементов поддерживается за счет энергии метаболизма в состоянии взаимной лабильной ориентации, создавая системы общих энергетических уровней. Пространственные параметры таких «неравновесных молекулярных констелляций», обладая известными степенями свободы, зависят вместе с тем от воздействия вышестоящих уровней — клеточного уровня, уровня целого. Целое выступает, таким образом, и относительно молекулярного субстрата, как непрерывно «работающий, нормирующий» фактор.

Вместе с тем, определение упорядоченности как неравновесной подчеркивает динамичность всего понятия. Представление о молекулярном субстрате неотделимо от представления о молекулярных процессах, включая и процессы деформаций молекулярных комплексов, т. е. непрерывные модификации стерических состояний. Отсюда понятие «физиологической теории протоплазмы».

Введение в биологию совершенно необходимых ей физических и химических понятий нужно рассматривать, с точки зрения А. Г. Гурвича, не как самоцель, а как путь для построения по возможности единой системы молекулярных представлений, соответствующей биологическим требованиям.

---

[1] Нужно отметить близость в этом отношении взглядов А, Г. Гурвича и Э. С. Бауэра.

ГЛАВА 1. Физические и физико-химические основы митогенетического излучения и фотохимические последствия его действия

В этой главе, где будут подробно разбираться конкретные вопросы механизма возникновения излучения и фотохимических процессов, возникающих в результате облучения, можно сразу же выделить основные вехи:

а) свободнорадикальный механизм возникновения излучения,

б) значение фотона излучения как энергетического фактора, значительно превышающего по своему уровню макроэргические связи и вызывающего процессы цепного характера.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАЛАНС ИЗЛУЧЕНИЯ

Наиболее общее определение митогенетического излучения сводится к следующему — это ультрафиолетовое излучение широкого диапазона, возникающее при экзотермических химических реакциях, протекающих in vitro и в живых системах и характеризующееся очень малой интенсивностью. Поглощение молекулами такого слабого потока высокоэнергетичных фотонов приводит к ряду последствий, выливающихся в живых системах в различные макроявления. Стимуляция излучением клеточных делений является как раз одним из таких, биологически наиболее важных явлений.

Однако, несмотря на определенность наблюдаемых явлений, создание конкретной энергетической схемы возникновения излучения представляло затруднение, так как митогенетическое излучение с средней энергией фотонов в 100 *ккал/моль* систематически обнаруживалось и изучалось на ферментативных процессах с валовым тепловым эффектом всего в несколько *ккал/моль*.

Выход был указан фотохимиком Frankenburger (1933), к общим положениям которого позднее были высказаны Н. Н. Семеновым и Я. Б, Зельдовичем очень существенные дополнения (см. А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

Frankenburger, исходя из очень слабой теплотности процессов, дающих митогенетическое излучение, и принимая, вместе с тем, во внимание ничтожную интенсивность излучения[1] пришел к выводу, что единственным энергетическим источником могут быть лишь процессы с высокой теплотностью, сопровождающие основной ход реакции, но возникающие, однако, настолько редко, что они не отражаются сколько-нибудь заметным образом на валовом термическом балансе реакции. Такими процессами могут быть лишь рекомбинации свободных радикалов, появляющиеся в ничтожных количествах при ферментативных реакциях. Речь может идти о наиболее простых, реакционноспособных радикалах или атомах: радикалах гидроксила, карбонильной группе, амино- или иминогруппе, атомах водорода или кислорода.

Согласно представлению Frankenburger, энергия возникающая при их рекомбинациях не излучается непосредственно. Как правило, она поглощается теми или иными из молекул субстратов реакции и высвечивается ими с характерным для них спектром. Гипотеза Frankenburger содержала, таким образом, два допущения, доступных экспериментальной проверке: появление в реакциях свободных радикалов или атомов и поглощение энергии их рекомбинаций молекулами субстрата с ее последующим высвечиванием.

Мы приведем экспериментальные обоснования этих положений, предпослав им сначала те необходимые дополнения, которые были сделаны Н. Н. Семеновым и Я. Б. Зельдовичем. Ими было указано на то, что в реакциях с крайне слабым положительным энергетическим балансом не могут возникать радикалы в боль-

[1] По оценке физиков, работавших между 1930—1940 гг. со счетчиками фотонов Гейгера — Мюллера (Rajewski, Г. М. Франк и С. Ф. Родионов, Barth, Siebert, Audubert) интенсивность излучения порядка нескольких тысяч фотонов от квадратного сантиметра источника в 1 *сек*. Получаемые в настоящее время результаты на фотоумножителях подтверждают эти данные.

шем количестве, чем они представлены в самом субстрате без прибавления фермента, так как фермент лишь катализирует, т. е. ускоряет реакцию. Для возникновения в большем количестве свободных радикалов необходимы, таким образом, еще какие-то дополнительные источники энергии, которые вовлекаются в общий процесс.

Внимательное изучение условий, при которых наблюдается высвечивание ферментативных реакций, показало, что необходимым условием является наличие атмосферного кислорода, а в большинстве изученных реакций и видимого света [1].

Наиболее вероятным является следующее представление: фермент вызывает в субстрате *AB* какие-то изменения, которые могут идти и без участия видимого света или кислорода и которые можно обозначить как AB^1 или расщепление на $A + B$. Расщепление молекул или их отдельных функциональных групп до радикалов (т. е. дальнейшие изменения AB^1 или $A + B$) происходят редко и только при наличии света или кислорода.

Экспериментальное обоснование второго положения Frankenburger, утверждавшего, что энергия рекомбинаций радикалов поглощается окружающими молекулами с последующим высвечиванием, было получено следующим образом. К системе фермент + субстрат прибавлялось третье вещество, заведомо не участвующее в данной реакции, спектр излучения которого был известен из предшествующих исследований. Производилось наблюдение за тем, не возникают ли в спектре, характерном для данной реакции добавочные полосы, типичные для прибавленного вещества.

Ряд положительных результатов говорил о правильности этого допущения и, по-видимому, о всеобщности этого принципа. В качестве излучающих систем чаще всего брались предварительно облученный ослабленным ультрафиолетовым излучением, т. е. фотовозбужденный, раствор гликокола, приобретающий способность к слабому длительному последующему высвечиванию в ультрафиолетовой области, и классическая

[1] Опыты проводят, как правило, при рассеянном дневном свете (при закрытых окнах) и отсутствии в комнате источников ультрафиолетового излучения.

ферментативная система — уреза + мочевина. Спектры излучения обеих систем предварительно тщательно изучались. Прибавление к той и другой системе небольших концентраций глюкозы меняло спектральную картину — наряду с типичными для обеих систем полосами, возникали и полосы, характерные для глюкозы[1] (рис. 1) (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1939). Излучение, или флуоресценция, вещества за счет поглощения им

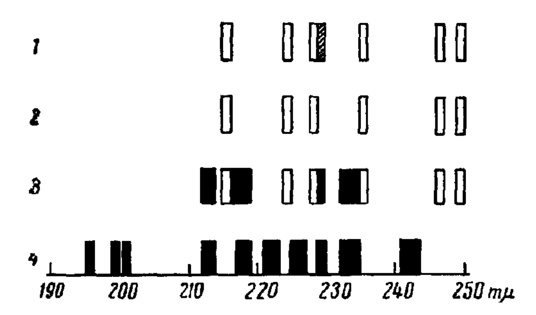


Рис. 1. Примеры спектров сенсибилизированной флуоресценции, полоса 2290—2300 Å (заштрихованная) характеризует излучение гли-[кокола (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

1 — облученный гликокол + радикал PO_4 (раствор ортофосфорной кислоты); *2* — излучение при ферментативном расщеплении нуклеиновой кислоты или лецитина; *3*—облученный гликокол + фосфорнокислый натрий; *4* — облученный гликокол + хлористый натрий.

энергии, выделяющейся при химической реакции, было обозначено по предложению физика А. Н. Филиппова как «сенсибилизированная» флуоресценция. По своему существу оно равнозначно понятию хемилюминесценции.

Описанные данные являются лишь частью более широких исследований, показавших, что именно этот механизм передачи энергии является общим принципом возникновения митогенетического излучения.

[1] Разумеется, предварительная контрольная проверка — прибавление глюкозы к необлученному предварительно гликоколу или к раствору уреазы (отдельно) и к раствору мочевины (отдельно) — не давала положительных результатов,

Исследования Е. А. Гордон (1940) показали хорошее совпадение спектра бензола, изученного физическим методом (Pringsheim), со спектром сенсибилизированной флуоресценции, возникающим при прибавлении бензола к ферментативной системе (рис. 2). Таким образом, было обнаружено сходство между флуоресценцией, наблюдаемой митогенетическим методом, и флуоресценцией в обычном физическом смысле слова.

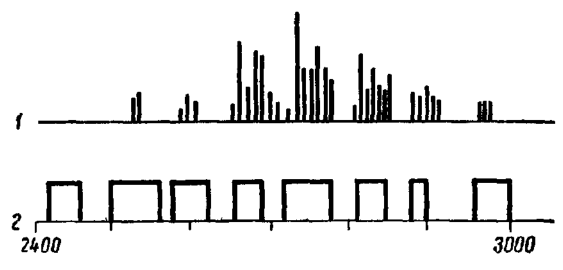


Рис. 2. Спектры бензола (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945)

/ — спектр флуоресценции паров бензола (по Prlnqshelm); 2 — спектр излучения водного раствора бензола при растворении в нем предварительно облученного гликокола.

Основные митогенетические данные могли быть поэтому рассмотрены с этой же точки зрения.

Исследование различных химических соединений показало, что далеко не все вещества являются флуоресцентами. В частности, представляющие особенный биологический интерес высокомолекулярные соединения — гликоген, белки, нуклеиновые кислоты — не флуоресцируют как целые молекулы. Их элементы, особенно ясно это показано для нуклеиновой кислоты, обладают, однако, способностью к сенсибилизированной флуоресценции. При прибавлении фермента фосфатазы (кашица печени) к раствору дезоксирибонуклеиновой кислоты от крупного органического ядра отщепляется входящий с ним в эфирную связь радикал фосфорной кислоты — PO_4. При этом возникает излучение, характеризующееся определенным спектром. Идентичный спектр получается и при ферментативном расщеплении лецитина, также заключающего радикал фосфата в эфирной связи. Одно это уже показывает, что излучение как-то связано с свободным радикалом фосфата,

т. е. что флуоресцентом является именно он. Действительно, при прибавлении к излучающему гликоколу следов фосфорно-кислого натрия в спектре возникают полосы, наблюдающиеся при действии фосфатазы и, наряду с этим, ряд новых полос, которые предположительно можно связать с ионом натрия.

Это предположение подтвердилось, когда к излучающему гликоколу вместо фосфорнокислого натрия прибавляли некоторое количество хлористого натрия. В возникающем при этом спектре излучения обнаруживались все те полосы, которые приписывались иону натрия (см. рис. 1).

Из этих данных следует, что самая характерная часть нуклеотида — пуриновые основания — не находит отражения в спектре сенсибилизированной флуоресценции. Вместе с тем, способностью к флуоресценции обладают простые ионы и радикалы. Кроме того, совпадение спектра излучения глюкозы, наблюдаемого при ее прибавлении к чуждой ей ферментативной системе, со спектром, возникающим в системе глюкоза — зимаза, показывает, что и во втором случае флуоресцируют именно не затронутые ферментативным расщеплением молекулы глюкозы.

Другими словами, для различных, не высокомолекулярных, химических соединений (элементов) вероятность возникновения излучения под влиянием поглощенной ими химической энергии велика. Закономерностью общего характера является то, что высокомолекулярные соединения как целое не флуоресцируют.

Наряду с этим в составе пептидов обнаружено наличие так называемой флуорофорной группы. Пептидная связь — функциональная группа, соединяющая два соседних пептида $(\mathrm{O{=}\overset{\diagdown}{C}{-}\overset{\diagup}{N}{-}H})$, обладает способностью к высвечиванию поглощенной ею химической энергии. На это указывает совпадение спектров сенсибилизированной флуоресценции двух различных дипептидов: глицил-глицина, состоящего из двух остатков гликокола, и глицил-тирозина, состоящего из остатков гликокола и тирозина. Общей для этих веществ является только пептидная связь (гликокол, входящий в состав обоих пептидов, не флуоресцирует). При ферментативном расщеплении этих дипептидов возникают

полосы, характерные для пептидной связи. И в этом случае флуоресцируют элементы (в данном случае отдельные входящие в молекулы функциональные группы, а не молекулы целиком), не расщепляющиеся непосредственно ферментами.

Описанные факты достаточно обосновывают право рассматривать излучение, возникающее при ферментативных процессах, как флуоресценцию тех или иных присутствующих в растворах веществ независимо от того, участвуют ли они в данной реакции или нет. Сами же радикалы, рекомбинация которых дает необходимую энергию, остаются при этом как бы в тени, за исключением радикала гидроксила, полоса которого обнаруживается во многих случаях ферментативного расщепления. Описание методов обнаружения радикалов является задачей настоящей главы. Расчет энергетического баланса будет производиться с учетом участия в реакции видимого света и атмосферного кислорода.

Первый этап состоял в определении спектров-эталонов трех радикалов, наиболее существенных для анализа ферментативных реакций: гидроксила, свободной карбонильной группы и свободной амино- или иминогруппы. Определение было основано на том, что при фотодиссоциации данного тела возникают следующие возможности:

1) энергия фотона облучения достаточно велика для расщепления данного соединения и для возбуждения одного из возникающих при этом радикалов, 2) энергии фотона не хватает для этих двух актов, т. е. радикалы освобождаются в невозбужденном состоянии. Но можно предположить, что при достаточно интенсивном облучении свободный радикал поглотит второй фотон, которым и будет возбужден.

Из интересующих нас радикалов только гидроксил удовлетворяет первому условию. Если исходить из перекиси водорода, на диссоциацию которой на два гидроксила нужно затратить приблизительно 52 *ккал/моль,* и из энергии возбуждения гидроксила, равной приблизительно 93 *ккал/моль,* то при подсвечивании полосой ультрафиолетового, даже очень слабого излучения в области 1900 A, соответствующей 150 *ккал/моль,* поглощение одного фотона может сразу привести к появлению возбужденного радикала гидроксила. Действительно,

облучение перекиси водорода излучением ферментативных процессов, субстраты которых содержат глюкозу или мочевину (вещества, в спектры флуоресценции которых входит полоса 1900 Å), приводит к возникновению возбужденного гидроксила, — возникает полоса его флуоресценции 3060 Å.

В противоположность этому возникновение свободной карбонильной группы в возбужденном состоянии, которая может быть получена при диссоциации ацетона, возможно только при облучении ацетона более интенсивным ультрафиолетовым источником. Это объясняется тем, что для расщепления ацетона требуется фотон значительно большей энергии (порядка 140 *ккал/моль)* и, следовательно, для возбуждения свободной карбонильной группы необходимо практически одновременное поглощение второго, тоже высокоэнергетического, фотона. Полоса излучения возбужденной карбонильной группы лежит в области 2020—2040Å.

Таким же методом обнаруживается эмиссионный спектр свободной аминогруппы. Он возникает при подсвечивании водного раствора аммиака достаточно интенсивным ультрафиолетовым облучением коротковолновой области с энергией фотонов порядка 150 *ккал/моль* или при одновременном подсвечивании двумя полосами: одной, лежащей у границы сплошного поглощения аммиака (2260 Å), и второй, соответствующей полосе испускания аминогруппы (2530 Å). Таким образом, и в этом случае речь идет о двухактном процессе, т. е. сначала об отщеплении аминогруппы, а затем о ее возбуждении.

Таким образом, спектры-эталоны трех наиболее важных для ферментативных реакций радикалов давали возможность изучения светящихся фаз реакций.

Приведем пример одного из опытов с системой глюкоза + зимаза (из дрожжевой вытяжки). Спектр излучения данной реакции, включающий в основном полосы, характерные для глюкозы, состоит из 4 полос: 1900—1920Å, 1940—1950 Å, 1960—1970 Å, 2160—2170Å и, кроме того, из полосы 3060—3070 Å, типичной для свободного радикала гидроксила.

Раствор глюкозы (5%) подсвечивается полосой 2030—2040 Å от значительно ослабленного излучения водородной лампы. При этом констатируется отсутствие излучения раствора. Затем к такому же раствору глю-

козы прибавляется фермент (в отношении 1 : 100) и повторяется подсвечивание. В растворе возникает излучение, содержащее спектральную полосу 2030—2040 Å. Наконец, фермент прибавляется в таком же отношении к воде, при подсвечивании этой системы излучение не возникает. Ниже приводится излучение полосы 2030—2040 Å при подсвечивании растворов той же полосой:

	%
Раствор глюкозы без фермента . .	5
» » + фермент . .	67
Вода+фермент . . .	3

Аналогичным образом была обнаружена карбонильная группа в системах пептон + пептидаза и мочевина + уреаза; в них, при соответствующем подсвечивании, возникала также полоса 2530 Å, характерная для аминогруппы (или иминогруппы).

Наличие свободных радикалов при протекании ферментативных реакций было показано, таким образом, с достаточной достоверностью. Объяснение этих фактов не встречает затруднений с энергетической точки зрения, если принять во внимание участие в реакциях видимого света и атмосферного кислорода. Исследованные ферментативные реакции ведут себя в этом отношении, однако, неодинаково. Система глюкоза + зимаза сохраняет способность к излучению при наличии кислорода и в полной темноте, в то время как для излучения систем мочевина + уреза и пептиды + пептидаза требуется и видимый свет, и кислород.

При расчете энергетического баланса делаются следующие допущения. Молекула фермента действует на молекулу субстрата совместно с двумя фотонами видимого света, величину которых можно определить установлением длинноволновой границы активно действующей области. В эту реакцию вовлекаются атмосферный кислород и вода.

Наиболее простая схема расчета, особенно если принять во внимание, что отдельные этапы ферментативных процессов не являются еще в некоторых случаях до конца расшифрованными, состоит в следующем: составляется общий расходный баланс из расчета, что молекулы субстрата, O_2 и H_2O разлагаются на атомы или сравнительно простые радикалы (O, OH, NH_2, CO). Вычисляется энергия, освобождающаяся при

соединении радикалов в химически регистрируемые продукты реакции. Наряду с этим, учитывается энергия, возникающая и при предположительных рекомбинациях радикалов в другие соединения, не обнаруживаемых химическим анализом вследствие редкости их возникновений, т. е. ничтожности концентраций возникших соединений. Энергия рекомбинаций некоторых радикалов, которая, судя по спектру митогенетического излучения реакции, является как раз необходимой для этой эмиссии, при этом не учитывается. Получаемый таким образом дефицит (при вычитании из общего расходного баланса общего приходного баланса) покрывается (расчетным образом) энергией двух фотонов видимого света.

Такая схема расчета приводит к выводам, доступным экспериментальной проверке.

Приведем в качестве примера наиболее простой случай — расщепление мочевины ферментом уреазой. Продуктами гидролиза являются NH_3 и CO_2, реакция слабо экзотермическая, порядка 2 *ккал/моль.* Спектр излучения доходит при этой реакции до 1940 Å в коротковолновую сторону. Необходимо поэтому предположить появление, по крайней мере, двух видов свободных радикалов, рекомбинация которых может дать соответственную энергию. В данном случае речь может идти о свободном карбониле и об атомарном кислороде, рекомбинация которых дает энергию порядка 167 *ккал/моль.*

При расщеплении мочевины, воды и молекулярного кислорода затрачивается следующая энергия:

Отрыв от функциональной карбонильной группы двух аминогрупп . . . . 120 *ккал/моль*
Расщепление молекулы воды $H_2O \rightarrow H + H + O$ . . . 220 »
Расщепление молекулярного $O_2 \rightarrow O + O$ . . . . 118 »

Всего . . . —458 *ккал/моль*

Предполагаются следующие побочные процессы рекомбинаций:

$NH_2 + NH_2 \rightarrow N_2H_4$ (гидразин) +69 *ккал/моль*
$2(H + O) \rightarrow 2(OH)$ +220 »
$OH + OH \rightarrow H_2O_2$ +51 »

Всего . . . +340 *ккал/моль*

При этом неиспользованными остаются радикалы $>CO$

$>O$.

Дефицит, равный 118 *ккал/моль,* предположительно покрывается двумя фотонами видимого света, около 60 *ккал* каждый, соответствующих примерно 4700А, т. е. зелено-голубому участку спектра. Эти расчеты можно подтвердить экспериментально двумя путями: 1) обнаружить путем резонансного подсвечивания (описанного выше) радикал $>CO$, 2) определить эффективную границу видимого света.

В виде примера приводится одна из серий опытов, в которой производилось подсвечивание ферментативной системы уреаза + мочевина различными (близкими) областями видимого спектра:

	%
4250—4300А (фиолетовый) . . .	70
4700 А (голубовато-зеленый)	34
5000А (зеленый). . . .	4

Разберем аналогичным образом реакцию расщепления дипептида глицил-глицина эрепсином.

$$\begin{array}{l} H \overset{c}{\diagdown} \quad \overset{b}{\diagup} NH_2 \qquad\qquad\quad O \qquad\quad H \qquad\quad O \\ \qquad C \xrightarrow[e]{\hspace{2em}} C \overset{a}{—} NH — \; C — C \\ H \overset{d}{\diagup} \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad H \diagup \qquad \diagdown OH \end{array}$$

Предположим, что произошел разрыв связей, обозначенных буквами *a—e*. Энергия диссоциации выражается следующими величинами:

а —60 *ккал/моль;* в —60; с —93; *d* — 93; *в* — 71.

Кроме того,

H_2O —> H + OH —110 *ккал!моль*

O_2 —• O + O — 118 »

Общая сумма затраты энергии 605 *ккал/моль*

Предположительные рекомбинации:

1) Присоединение —H к —NH правой половины расщепленного дипептида, т. е. восстановление молекулы гликокола + 87 *ккал/моль;*

2) свертывание двух валентностей свободного >C< 4- 120 *ккал/моль;*

3) соединение >C, возникшего в результате предыдущего акта, с O-^CO + 167 *ккал}моль;*

4) H + H->H_2+108 *ккал/моль.* В результате рекомбинаций выделилось 482 *ккал/моль.* Дефицит в 123 *ккал* покрывается двумя фотонами с энергией не меньше 60 *ккал/моль,* соответствующими 4600 A (сине-зеленая область). При этом остаются свободные радикалы NH_2, CO, OH, O. Как видно из приводимых результатов, совпадение между рассчитанной и обнаруженной эффективностью видимого света не является таким близким, как в предыдущей группе. Разница приблизительно в 10 *ккал/моль* может быть объяснена неточностью определения энергии некоторых связей.

При подсвечивании системы белок + желудочный сок различными спектральными областями были получены следующие величины эффекта излучения:

	%
5000A (зеленый).	63
6000A (красный).	6

На этой же системе была показана так называемая квадратическая зависимость интенсивности митогенетического излучения системы от интенсивности подсвечивания, указывающая на то, что речь идет именно об утилизации энергии двух, почти одновременно попадающих фотонов видимого света. Для этого ферментативный процесс подвергался освещению зеленым светом определенной интенсивности I, затем интенсивность уменьшалась в 1,5 раза. Необходимая для обнаружения митогенетического излучения длительность экспозиции возрастала в $(1,5)^2$ раза (табл. 1).

Действительно, пороговая экспозиция для обнаружения излучения системы при полной интенсивности подсвечивания равна 4—5 *мин,* при подсвечивании, ослабленном в 1.5_2 раза,— 10—12 *мин,* т. е. отношение интенсивностей излучения, обратно пропорциональное экспозициям, равно приблизительно 2,5 или иначе $1,5^2$.

Несомненно, что работу в этом направлении, т. е. проведение расчетов с последующей экспериментальной

ТАБЛИЦА 1

Митогенетическое излучение системы при различной интенсивности подсвечивания

Время экспозиции в минутах *	Излучение системы при интенсивности подсвечивания в %	
	l	I/1.5
3	**5**	
4	**7**	
5	**21**	
6	**33**	
8	**42**	
10		**0**
12		**23**
15		**65**

* В этих опытах применялась другая модификация методики, требующая более длительных экспозиций.

проверкой нужно продолжать. Интересным в этом отношении является, например, то, что для излучения реакции гликолиза не требуется активация видимым светом. Полученный за последние годы в биохимии большой фактический материал относительно последовательности этапов и их связей в гликолитических и фосфоролитических процессах мог бы быть очень полезен для расчета энергетики хемилюминесценции, возникающей при этих реакциях.

Обширные исследования митогенетического излучения при реакциях окисления (А. Е. Браунштейн и А. П. Потоцкая, 1934) были посвящены изучению спектральной специфичности излучения при окислительных процессах. Вопрос ставился при этом следующим образом: что играет решающую роль .в возникновении Хемилюминесценции и в определении ее спектрального состава — донатор или акцептор электрона? Неорганические и простые органические системы исследовались поэтому на электрохимических моделях, показавших, что излучение возникает только на катоде. При окислительно-восстановительных реакциях спектр излучения определяется акцептором электрона, т. е. окислителем, и не зависит от донатора электрона, т. е. восстановителя.

Применение чувствительных счетчиков фотонов Гейгера-Мюллера для изучения излучения ультрафиолетовой хемилюминесценции, возникающей при различных химических реакциях (Audubert, 1938, 1939), дало большой достоверный материал, подтверждающий основные факты, полученные митогенетическими методами. Рассматривая механизм возникновения излучения, автор связывает его в основном с рекомбинациями свободных радикалов и атомов. Оценка интенсивности излучения (несколько тысяч фотонов с 1 *см*^{2} источника в 1 *сек)* аналогична данным, полученным другими исследователями, и соответствует квантовому выходу в 10^{-12}—10^{-13} фотонов на 1 молекулу или обратно — возникновению одного фотона на 10^{12}—10^{13} прореагировавших молекул.

Свободнорадикальный механизм хемилюминесценции рассматривается в настоящее время как основной. Свободные радикалы возникают при излучении окислительных процессов углеводородов в жидкой фазе и окислении липидов в модельных опытах и в живых системах.

Основной смысл выводов первой группы работ (Р. Ф. Васильев, А. А. Вичутинский, 1962; Р. Ф. Васильев, Аллабуттаев, А. А. Вичутинский, Русина, 1965), основанных на большом экспериментальном материале, следующий: окисление углеводородов в жидкой фазе представляет собой цепную радикальную реакцию; цепной процесс ведется углеводородными и перекисными радикалами; свечение реакции идет за счет энергии освобождающейся при рекомбинациях радикалов. Общий выход хемилюминесценции при этих процессах равен приблизительно 10^{-8} фотонов на одну образующуюся молекулу, т. е. интенсивность видимого излучения превышает на несколько порядков интенсивность митогенетического излучения, квантовый выход которого оценивается, как говорилось выше, в 10^{-12}—10^{-13} фотонов на одну молекулу.

Вторая группа исследователей (Б. Н. Тарусов и др., 1961, Б. Н. Тарусов, А. И. Журавлев, 1965), изучающих видимую хемилюминесценцию, связанную с окислением липопротеидов, рассматривает акт высвечивания как результат взаимодействия естественных антиокислителей с перекисными радикалами, присутствующими в биолипидах организмов. Биологический смысл таких

взаимодействий авторы видят в постоянном поддерживании этим путем низкого уровня окисления биолипидов, особенно липопротеиновых комплексов.

Изучение коллоидных процессов и процессов кристаллизации (А. И. Рабинерсон, М. В. Филиппов, 1939, А. И. Рабинерсон, М. А. Владимирская, 1939; А. И. Рабинерсон, 1940) показало, что как при процессах коагуляции, так и при образовании трудно растворимых осадков, т. е. образовании ионных и молекулярных решеток, возникает ультрафиолетовая хемилюминесценция митогенетической интенсивности. Если для коагуляционных процессов и для процесса формирования молекулярной решетки вопрос о возникновении больших квантов энергии не является еще и в настоящее время достаточно ясным, то сам факт излучения, зарегистрированного параллельно биологическим методом и счетчиками Гейгера-Мюллера, представляет большой интерес.

Изучаемое в настоящее время (Сафонов, Шляпинтох, Энтелис, 1964) с помощью фотоэлектронных умножителей явление кристаллолюминесценции, т. е. люминесценции, сопровождающей возникновение кристаллической решетки, захватывающей видимую и близкую ультрафиолетовую область, подтверждает значение и интерес прежних данных.

Ограничиваясь этим сравнительно кратким изложением физико-химических основ митогенетического излучения, мы хотим со всей определенностью подчеркнуть несомненность тесной связи между различными подходами к изучению этого широко распространенного явления и принципиальное значение митогенетических исследований, в которых, в сущности говоря, впервые был широко рассмотрен свободнорадикальный механизм хемилюминесценции.

СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ВТОРИЧНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ

Приводя отдельные примеры, связанные с энергетическими схемами, мы затрагивали спектральные данные. Рассмотрим основные факты подробнее, так как спектральное разложение имеет очень большое значение для любого направления исследования, связанного

с излучением Мы ограничимся здесь сущностью явления, а методическую сторону разберем в отдельной главе.

Возможность спектрального разложения столь мало интенсивного излучения, каким является митогенетическая хемилюминесценция, обусловлена высокой чувствительностью биодетекторов, стимуляция клеточных делений которых может быть вызвана поглощениями отдельными клетками одного-двух фотонов излучения. Поэтому и в предшествующие годы и в настоящее время рабочим методом исследования является метод биодетекции [1].

При спектральном анализе митогенетического излучения интерес может концентрироваться на изучении конечных или промежуточных продуктов реакции, т. е. стойких или мимолетных флуоресцентов, поглощающих химическую энергию и высвечивающих ее с специфическим спектром. О таких примерах мы говорили, разбирая отдельные ферментативные реакции, и таким образом был изучен ряд спектров, которые можно рассматривать как определенные ориентиры для расшифровки более сложных спектров, получаемых при известных условиях[2] на биологических объектах (рис. 3).

Спектральное изучение излучения органов на живом животном при возможно близких к физиологическим условиям дает результаты, требующие другой трактовки. Вследствие диффузности спектральных максимумов выделение отдельных полос, характерных для свободных флуоресцентов, становится невозможным На первый план выступает другой критерий — оценка расположения полос и их ширины, достигающей часто значительных величин, позволяющая составить суждение о структурно-энергетическом состоянии субстрата. Этот аспект спектрального анализа подробно обсуждается в главах, посвященных анализу молекулярного субстрата живых систем и излучению нервной и мышечной систем. Здесь мы лишь подчеркнули общий характер явления.

[1] Высокочувствительные фотоумножители дают возможность приблизительной оценки спектральных областей при помощи светофильтров.

[2] Например, спектры излучения нервов (см. главу о излучении нервной и мышечной систем).

Специальной областью спектрального анализа является анализ так называемого селективного рассеяния и проведения. При этом растворы веществ (в очень малых концентрациях) или биологические объекты, подвергаясь ослабленному освещению от физического

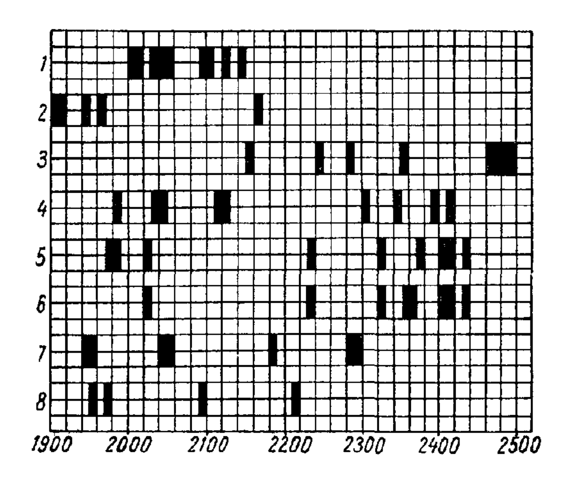


Рис. 3. Спектры-эталоны ферментативных реакций (А. Г. Гурвич, Л Д Гурвич, 1945)

1 — расщепление креатинфосфата (является ли флуоресцентом вся молекула или продукты расщепления, осталось не выпсненным), 2 —расщепление глюкозы (флуоресцент глюкоза), 3 —расщепление нуклеиновой кислоты и лецитина (флуоресценция группы PO_4), 4 — расщепление пептидов (флуоресценция пептидной свлзи), 5 — расщепление мальтозы (флуоресцирует, по-видимому, молекула цели ком), *6* — расщепление сахарозы (флуоресцирует, по види мому, молекула целиком), *7* — расщепление мочевины (флуоресцируют радикалы R-CO и $R\text{-}NH_2$), *8* — расщепление липидов (флуоресценты не ясны) По оси абсцисс — длина волн в ангстремах

источника ультрафиолетового излучения с панхроматическим характером спектра, высвечивают ультрафиолетовое излучение митогенетической интенсивности, спектры которого состоят из различных, для каждого данного объекта, набора полос, т. е. спектры селективны.

Другими словами, в этом случае речь идет о явлении, отличающемся от хемилюминесценции в строгом смысле слова, которую именно и характеризуют спектры двух первых типов. Необходимость светового

возбуждения для возникновения селективных спектров, несколько нарастающая по мере распространения на большие объемы интенсивность излучения, необходимость присутствия атмосферного кислорода для возникновения излучения — все это заставляет предположить, что речь идет о сопряженных лучистых и химических процессах. Последние нужно понимать как цепные процессы разветвляющегося характера, в которых роль энергетических стартов играют фотоны. По терминологии, предложенной Я. И. Френкелем, такое явление в целом можно охарактеризовать как диффузию фотонов.

Сопряженность связи химических и физических актов принципиально важна, она лежит в основе многих наблюдаемых митогенетическими методами явлений и в живых системах обуславливает переход микроявлений в макроявления. Мы остановимся на этом вопросе подробно после описания основных результатов, полученных методом спектрального анализа селективного рассеяния. (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945, 1959).

Существенным и новым по сравнению с эмиссионными хемилюминесцентными спектрами является то, что этот метод выявляет, благодаря первичному фотовозбуждению, те элементы, которые в первом случае как бы остаются в тени. Именно так обстояло дело, как мы знаем, с обнаружением свободных радикалов при ферментативных реакциях, не обладающих без подсвечивания достаточной для митогенетического излучения энергией. Как показывает большой экспериментальный материал, «селективные» спектры делятся на два основных типа: аддитивные и интегральные. Совокупность полос в первых является как бы суммой спектров отдельных, входящих в данную молекулу и связанных с ней функциональных групп[1] — гидроксильной группы, карбонильной группы, аминогруппы. Аддитивные спектры характерны для открытых цепей — спиртов, жирных кислот, аминокислот, пептидов, белков. Интегральные спектры характеризуют молекулу как целое, они типичны для циклических и гетероциклических соединений и для некоторых простых молекул (гидроксиламина, гидразина, формальдегида, муравьиной кислоты).

[1] Не являющихся, другими словами, свободными радикалами,

Определение спектров отдельных функциональных групп, входящих в молекулу, основывается на следующем: сравниваются спектры соединений, отличающиеся какой-нибудь одной группой. Например, сравнение спектров мочевины $O{=}C\genfrac{}{}{0pt}{}{\diagup N{-}H_2}{\diagdown N{-}H_2}$ и гуанидина $N{=}C\genfrac{}{}{0pt}{}{\diagup NH_2}{\diagdown NH_2}$ дает предварительную ориентацию относительно того, какие полосы соответствуют аминогруппе (совпадение

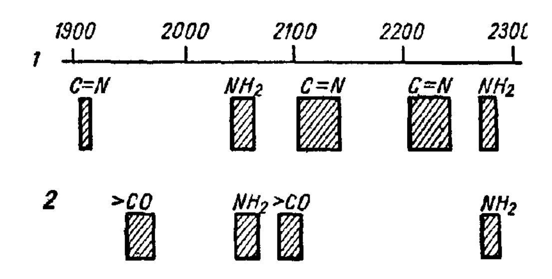


Рис.. 4. Спектры селективного рассеяния растворов гуанидина и мочевины (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

1 — гуанилин; *2* — мочевина.
По оси абсцисс — длина волн в ангстремах.

полос) и какие карбонильной группе $O = C$ и группе $N = C$ (различное положение полос в обоих веществах (рис. 4).

Правильность такого вывода проверялась дальнейшим сопоставлением спектров других соединений. Так, например, полосы, предположительно характеризуемые как типичные для группы $C = N$, содержатся также в спектрах аргинина и креатина, но не содержатся в спектрах других аминокислот. Полосы, приписываемые аминогруппам, не содержатся в спектрах жирных кислот и т. д.

Последовательное изучение спектров целого ряда соединений позволило составить небольшой спектральный атлас, отдельные данные которого были с успехом применены для анализа молекулярных состояний субстрата живых систем (рис. 5).

Вернемся к очень важной связи между химическими явлениями и излучением, так как она лежит в основе возникновения митогенетических эффектов, остающихся на уровне микроявлений в неорганизованных системах, по приводящих в живых системах к различным макропроявлениям.

Возникновение макроявлений обуславливается развитием цепных процессов разветвленного характера. Фотоны излучения являются при этом стартовыми факторами химических процессов — молекулы, возбужденные поглощенной энергией, становятся центрами заро-

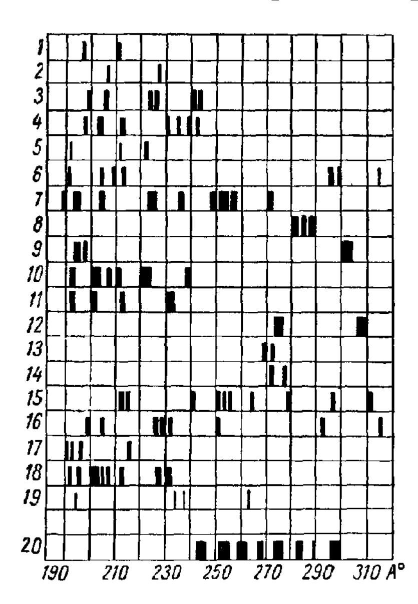


Рис. 5. Спектры селективного рассеяния и хемилюминесценции различных соединений:

1/ — карбонильной группы; *2* — аминогруппы; 3 —гидроксильной группы; *4* — лактимной формы пептидной связи; 5— лактамной формы пептидной связи; *6*—метальной группы; 7 —метилового спирта; *8* — гидроксиламина; Р—гидразина; *10* — формальдегида; /7 —индола, *12* — пиррола; *13* — фенильной группы; /4 —оксифенильной группы; *15*— аденина, *16* — дикетопиперазина; *17* — глюкозы; *IS*- триптофана; *19* — ацетилхолина; *20* — бензола.

ждения цепей. U разветвляющемся характере цепных процессов говорит в первую очередь основной митогенетический эффект, т. е. стимуляция митогенетическим излучением клеточных делений. Действительно, деление клетки — процесс, связанный с перестройкой всего клеточного субстрата, вызывается поглощением клеткой лишь одного-двух фотонов излучения[1].

На это же указывает широко распространенное явление вторичного излучения, возникающего при облучении соответствующих субстратов источниками митогенетического излучения. Вторичное излучение распро-

[1] Подробное изложение фактов дается в главе, посвященной клеточному делению.

страняется на большие объемы и по мере распространения не только не затухает, но даже несколько нарастает в своей интенсивности.

Другими словами, облучение субстрата вызывает в нем фотохимические цепные процессы, сопровождающиеся излучением. Вторичное излучение распространяется в растворах со скоростью порядка 30 ж в 1 *сек*. Латентный период, отделяющий вспышку вторичного излучения от подаваемого в виде короткой вспышки первичного облучения, порядка 0,001 *сек*.

При облучении субстрата источником митогенетической интенсивности важно, чтобы в спектр источника входили хотя бы некоторые полосы, соответствующие спектру вторичного излучения субстрата. При облучении более интенсивным физическим источником ультрафиолетового излучения это условие не является обязательным.

Принципиально важным является тот факт, что способность к вторичному излучению характерна только для свежих или приготовленных недавно растворов. Так, например, растворы глюкозы, мочевины, нуклеиновых кислот, белка (особенно при их хранении на свету и в присутствии атмосферного кислорода) сохраняют свою способность к вторичному излучению лишь в течение нескольких часов. Параллельно с такой лабильностью соединений наблюдается и свойство быстрой утомляемости растворов, т. е. потери ими способности к вторичному излучению, наступающей, как правило, через 15—20 *мин* после начала облучения митогенетическими источниками.

Больше того, утомленный раствор обладает свойствами гасителя излучения (т. е. оптической непрозрачно. йости) по отношению к свежеприготовленным. Так, например, раствор глюкозы, облучавшийся длительное время, гасит вторичное излучение свежего раствора при прибавлении к нему в отношении 1 : 100. Такой же эффакт гашения наблюдается и при прибавлении необлученных растворов, но хранившихся длительное время на свету. Эти результаты позволяют, таким образом, сделать вывод, что в обоих случаях происходят одинаковые химические изменения.

Вторичным излучением не исчерпываются те несомненные фотохимические эффекты, которые вызывает

митогенетическое облучение объектов, но во всех случаях поглощение фотона должно быть стартом цепной реакции с выходом во всяком случае больше единицы.

Другими словами, первичный элементарный акт приводит к большему числу вторичных актов, а при облучении живых систем к значительно большему числу. Мы подчеркиваем эту формулировку, так как именно в митогенетических исследованиях анализируется вопрос о роли редких событий в развитии биологических явлений, вовлекающих несоизмеримо большее число молекул, по сравнению с активизированными вначале. Специфические условия молекулярного субстрата живых систем, благоприятствующие развитию процессов, будут поэтому рассматриваться весьма подробно.

Цепные реакции, доступные нашему наблюдению, разделяются во-первых, на реакции, сопровождающиеся излучением (вторичное излучение) и протекающие без излучения; во-вторых, они различаются по характеру конечных продуктов на реакции с образованием продуктов фотодиссоциации и реакции синтетического характера.

Все полученные до сих пор результаты говорят о том, что реакции, сопровождающиеся излучением, относятся к процессам диссоциаций, а реакции, не сопровождающиеся излучением, являются реакциями синтеза. В сложных субстратах живых систем, несомненно, осуществляется сопряженность этих явлений.

РЕАКЦИЯ СИНТЕЗА

Разберем вопрос о поликонденсации пептидов, обнаруживаемой в модельных опытах. Конденсация связана с установлением связи между мономерами путем выделения молекулы воды:

$$HO{-}CH_2{-}OH + HO{-}CH_2{-}OH \;{-}{>}\; OH{-}CH_2{-}O{-}CH_2{-}OH + H_2O$$

При обычных условиях воздействия, например нагреве, конденсация не представляет собой цепного процесса, так как совокупность актов, приводящих к формированию пептидной связи, приблизительно термонейтральна, т. е. при этом не освобождается энергия для построения дальнейшей пептидной связи. При воздействии фотонами митогенетического излучения процесс

приобретает цепной характер. Это является понятным, так как поглощенная аминокислотой достаточно высокая энергия фотона, дающая начало процессам перестройки, освобождается при завершении этих актов и может быть использована для построения следующей пептидной связи. Другими словами, при облучении и небольшой непрерывной энергии активации процесс конденсации может распространиться, несмотря на известный градиент падения, на измеримые объемы

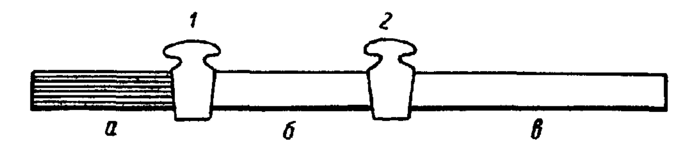


Рис. 6. Трубка с кранами (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945). Объяснение в тексте

(А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945, 1959). Это подтверди дается экспериментально. Трубка длиной в 20 *см,* разделенная кранами на три отдела, заполнялась раствором пептона. Во время короткого (1—2 *мин)* облучения пептона в отделе «а» отделы «а» и «б» оставались сообщенными, отдел «в» был отделен. После облучения отдел «б» отделялся от «а», и через 10 *мин* на короткое время открывался отдел «в». Примерно через 30 *мин* из отдела «в» бралась проба пептона, которая при соединении с пепсином (желудочный сок) давала вспышку митогенетического излучения. Присоединение пепсина к необлученному пептону не давало излучения (рис. 6). Таким образом, цепной характер поликонденсации является несомненным.

Наряду с пептоном, облучению подвергались с положительным результатом и смеси аминокислот — дикарбоновые кислоты и гликокол, иногда включалась и циклическая аминокислота (тирозин).

Образующиеся в очень малых концентрациях конденсаты высокомолекулярны, на что указывает их неспособность к диализу через коллодийную пленку. При прибавлении пепсина к отделенному диализом синтетическому продукту возникает митогенетическое излучение со спектром, характерным для пептидной связи.

Продукт конденсации пептона обнаруживается, помимо митогенетического спектрального анализа, и по увеличению поглощения в области, типичной для белковых тел (2400—2800 Å). Судя по спектрам-эталонам, полученным при прибавлении к пептону белка в очень малых количествах, увеличение поглощения в облученном пептоне соответствует приблизительно 10^{-5} растворам белка по весу (рис. 7).

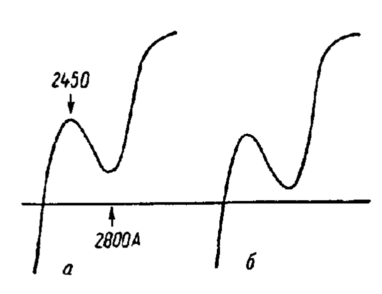


Рис. 7. Спектр поглощения пептона (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945) (точная обрисовка микрофотометрических кривых со сглаживанием мелких зубцов).

а — до, *б* — после облучения.

В противоположность фотохимическим реакциям, сопровождающимся вторичным излучением и возникающим преимущественно при облучении субстратов соответствующими резонансными спектральными полосами, реакция синтеза пептидов не обнаруживает никакой избирательности относительно длин волн облучения. Однако эффективность облучения резко падает в длинноволновой области, причем границы эффективности различны в полной темноте и при подсвечивании видимым светом. В первом случае эффективность прекращается у 2700 А, что соответствует приблизительно 105 *ккал/моль,* во втором — у 3260 Å, т. е. приблизительно соответствует 87—90 *ккал/моль*[1].

Таким образом, процесс синтеза при добавочной активации видимым светом возникает под действием менее энергетичных ультрафиолетовых фотонов, чем в отсутствии света. Разница в энергии составляет примерно 18 *ккал/моль.* Это заставляет думать, что энергия фотона в 105 *ккал/моль* используется на два раздельных акта; один из них требует основной порции энергии порядка 87 *ккал/моль,* второй — небольшую энергию в 18 *ккал/моль.*

Из расчета энергетического баланса реакции мы видели, что 87 *ккал* соответствуют энергии связи N—H.

[1] Эти определения не превышают точности примерно в 20 Å.

Поэтому можно предположить, что начальное звено фотохимического процесса состоит именно в отщеплении атома водорода от N—H. Правильность этого предположения подтверждается различными видоизменениями комбинаций облучения. Было показано, например, что к фотону ультрафиолетового излучения с энергией 87 *ккал* (3260 Å) достаточно добавить действительно только 18 *ккал,* т. е. ближний инфракрасный свет (приблизительно 15 000 Å). К одинаковым результатам приводят и другие комбинации двух фотонов, удовлетворяющие одному условию, — достаточной энергетичности ультрафиолетовых фотонов, равной или превышающей 87 *ккал/моль.* При анализе этих фактов нужно, конечно, принять во внимание поглощение аминокислот в области ультрафиолетового излучения. Известно, что у неароматических аминокислот степень поглощения в сторону длинноволнового ультрафиолета постепенно уменьшается, однако без резкого перелома в области 3260Å. (рис. 8).

Поэтому резкое уменьшение эффективности излучения именно в этой области не может быть объяснено изменениями в поглощении. Приведенные факты гармонируют с изложенными выше данными, говорящими о цепном характере реакции фотосинтеза пептидов. С точки зрения двухактного действия фотонов (большого, дающего старт реакции, и малого, активирующего весь процесс) становится понятной достаточность короткого облучения ультрафиолетовыми фотонами, наряду с необходимостью непрерывного подсвечивания видимым или инфракрасным светом.

Чем обуславливается низкий концентрационный уровень поликонденсата, не представляется пока ясным. При рассмотрении этого вопроса следует принять во внимание и возможность обратных процессов, т. е. разрывов пептидных связей при поглощении фотонов. Не исключена возможность, что большое значение может иметь фактор времени — общее количество фотонов, подведенное к данному объему субстрата за короткое время, может дать менее благоприятные результаты, чем более растянутая по времени подача того же количества фотонов.

Эти соображения приобретают интерес при обсуждении вопроса о значении митогенетического режима

для пептидного синтеза в живых системах. Возможно, что постоянный, хотя и слабый, лучистый режим поддерживает процессы синтеза на большей высоте, чем это достигается в модельных опытах при кратковременном, хотя и более сильном облучении.

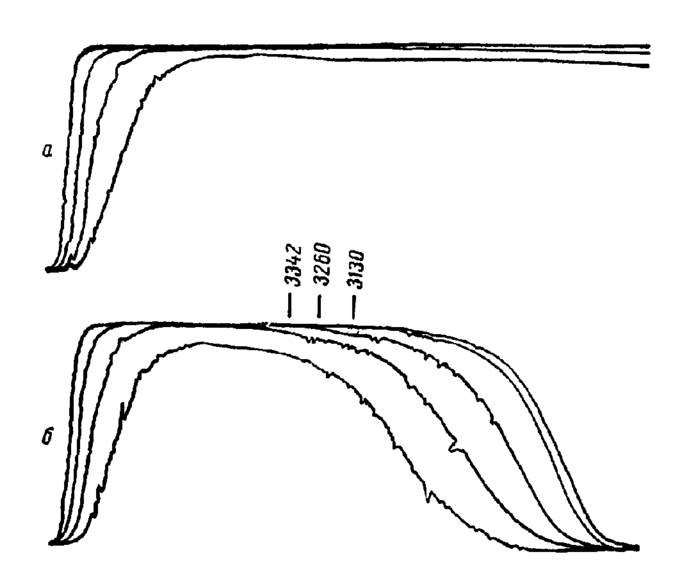


Рис. 8. Спектры поглощения воды *(а)* и 2% гликокола *(б)*.

Толщина слоя 19 *см.* Снимки произведены через ступенчатую шель коллиматора. Обратить внимание на очень незначительное различие в степени поглощения предельной активной полосы 3260 Å и инактивной полосы 3342 А (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

Мы не касались до сих пор вопроса, имеющего большое биологическое значение, — состояния динамического равновесия между лактам-лактимной формами пептидной связи.

Рассмотрим относящиеся к этому модельные данные. На этом примере будут также конкретно разобраны предпосылки, необходимые для оценки спектров селективного рассеяния. Сдвиг равновесия в сторону лактимной (енольной) формы пептидной связи определяется по усилению спектральных полос, характеризующих функциональную группу R-C=N-R и группу

R—OH, и ослаблению полос, характерных для карбонильной группы R—C=O, соответствующей лактамной (кето) форме пептидной связи.

Очевидно, что вопрос о роли лучистого фактора может быть решен с достаточной степенью однозначности при исследовании более сложных субстратов только при сравнении данных, полученных до и после облучения.

Именно таким образом были проведены сериальные опыты с облучением раствора альбумина яичного белка. После длительного (30—60 *мин)* митогенетического облучения раствора в нем методом селективного спектрального анализа обнаруживался ясный сдвиг равновесия в сторону лактимной формы пептидной связи (Е. И. Терновская, 1959).

ПОЛИКОНДЕНСАЦИЯ ОДНОЙ АМИНОКИСЛОТЫ

Образование пептидов при облучении смеси аминокислот является лишь частным случаем более общего процесса поликонденсации одной аминокислоты (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1940).

Основным признаком такой поликонденсации является длительное последующее излучение аминокислоты, возникающее через некоторое время после ее облучения. Факты, показывающие на связь этого явления с возникновением в аминокислоте высокомолекулярного вещества, заключаются в следующем: 1) излучение облученной аминокислоты исчезает после нагревания до 70—80°, но сохраняется при осторожном высушивании при 37° и растворении осадка; 2) после диализа облученной аминокислоты через коллодийную пленку излучение сохраняет только фракция, заключенная внутри диализационной гильзы, что указывает на связь излучения 41 высокомолекулярным телом; 3) энергетические условия облучения, т. е. ограничение эффективности облучения в длинноволновую сторону и участие видимого или инфракрасного света, вполне совпадают с теми, которые требуются для получения поликонденсатов из смеси аминокислот.

Большинство этих данных получено при облучении гликокола. Из первичных продуктов фото диссоциации гликокола, среди которых есть и свободные радикалы, строится молекула полипептида, для которого, как

показывает спектральный анализ, характерно преобладание лактимной формы пептидной связи. Последующее длительное излучение гликокола, связанное с наличием такого поликонденсата, проявляется, однако, только при притоке атмосферного кислорода. Другими словами, излучение возникает при окислении субстрата (молекул гликокола), идущем, однако, не спонтанно, а при наличии возникшего высокого полипептида. Спектральный анализ излучения показал, что при этом с достаточной ясностью обнаруживается только одна полоса с максимумом в области 2290—2300 Å. Вся совокупность условий, при которых проявляется активность поликонденсата, допускала возможность окислительного дезаминирования в гликоколе и соответствие полосы флуоресценции молекул аммиака. Действительно, модельные опыты по спектральному изучению слабого раствора аммиака показали тот же спектр излучения, т. е. подтвердили это предположение (Б. Никаноров, 1945).

Эти результаты приводят к очень важному выводу — возникающий полипептид аналогичен по своему действию ферменту дезаминазе. В этой связи представляет интерес ясный сдвиг лактам-лактимного равновесия в образовавшемся конденсате в сторону лактимной формы пептидной связи. Неустойчивость этой формы связи, т. е. ее большая реакционная способность, соответствует активному характеру поликонденсата.

Для процесса поликонденсации характерна еще одна очень важная черта: процесс может продолжаться во времени без всякого ограничения, т. е. он имеет цепной характер. Это с особенной ясностью проявляется при применении так называемых переносов (пассажей) образовавшегося поликонденсата в свежий раствор гликокола.

Приведем в качестве примера одну из экспериментальных серий. Раствор гликокола (0,5—1%) испытывается на излучение через некоторое время после его предварительного облучения каким-нибудь митогенетическим источником и после этого прибавляется к необлученному раствору гликокола в объемных отношениях 1 : 10. Немедленное испытание излучения этого раствора даст отрицательный результат, но по истечении приблизительно получаса обнаруживается ясное излучение раствора. Новые разбавления, в тех же временных и

объемных отношениях, приводят к тем же результатам без всякой тенденции к ослаблению излучения в повторных переносах, т. е. при номинальном разведении исходного облученного раствора по крайней мере на несколько порядков (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2

Излучение растворов гликокола после внесений предшествующих порций (затравок)

Порядковые номера переносов	Излучение в %		Порядковые номера переносов	Излучение в %	
	сразу после внесения затравки	через 30—40 *мин*		сразу после внесения затравки	через 30—40 *мин*
1	**8**	**44**	**6**		
2	**14**	**55**	**7**	**7**	**41**
3	**7**	**50**	**8**	**4**	**80**
4	**0**	**20**	**9**	**9**	**48**
5			**10**	**13**	**80**

Примечание. 5-й и 6-й переносы не испытывались на излучение.

Но, несмотря на явный цепной характер процесса конденсации, концентрация возникающего полипептида держится на очень низком уровне, обусловленном, по-видимому, частичной обратимостью процесса. На это указывают результаты, получаемые при повторных адсорбциях образующегося конденсата на каолин. В элюирующей жидкости, промывающей каолин, содержится приблизительно десятикратная концентрация конденсата.

«Ферментативные» свойства возникающего из аминокислоты поликонденсата и цепной характер его возникновения, т. е. неограниченная способность к самовоспроизведению за счет аминокислоты, заставили расширить и углубить изучение этого принципиального явления.

Были проведены широкие исследования в двух направлениях: изучалась возможность аналогичного самовоспроизведения (аутокализа) активных групп ферментов и, наряду с этим, более общий вопрос о возможности самовоспроизведения более сложных органических соединений из более простых.

АНАЛИЗ САМОВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИИ ИЗ АМИНОКИСЛОТ

В настоящее время на основании ряда исследований (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1938, 1945, 1947; З. В. Малеева, 1944, 1947; П. А. Шершнев, 1947) твердо установлено, что при прибавлении ничтожных количеств различных нативных ферментов (вытяжки из тканей, кровь) к растворам простых аминокислот (применялся, главным образом, гликокол) в последних появляются и при повторных переносах неограниченно размножаются конденсаты, обладающие некоторой ферментативной активностью, охарактеризованные поэтому как «ферментоиды» (П. А. Шершнев)

Критерием соответствия ферментоида ферменту является то, что при воздействии того и другого на адекватный ферменту субстрат возникает излучение одинакового спектрального состава, указывающее на развитие одного и того же процесса. Другими словами, возникший конденсат аналогичен активной группировке фермента.

Ничтожные количества конечного продукта расщепления субстрата заставляют думать о неустойчивости возникшего активного начала в данных конкретных условиях опыта. Однако способность его к неограниченному воспроизведению в растворах аминокислот следует из возможности многих повторных переносов активной затравки в свежую аминокислоту, аналогичных тем, которые были описаны в связи с поликонденсацией облученного гликокол а. Таким путем были изучены переносы уреазы (вытяжка из соевой муки), дрожжевой зимазы, пепсина (желудочный сок), протеазы и фосфатазы крови.

В табл. 3 приведены данные одного сериального опыта с ферментоидом уреазы (З. В. Малеева, 1947).

Контролями к таким опытам являются переносы не в растворы гликокола, а в воду.

Если принять во внимание, что предельная концентрация нативной уреазы, действие которой на субстрат обнаруживается митогенетическим методом, близка к 10^{-5} (по весу соевой муки), то положительный эффект в переносе 12-го порядка означает, что концентрация активной группы фермента возросла приблизительно в

ТАБЛИЦА 3

Излучение, возникающее при прибавлении свежеприготовленного и созревшего переноса к раствору мочевины

Порядковый номер переноса	Эффект излучения в %	
	свежеприготовленного переноса	созревшего переноса
1	0	66
4	2	41
8	7	41
12	3	52

10^7 раз. Это колоссальное увеличение должно идти, конечно, постепенно, т. е. при каждом переносе возрастать приблизительно в 10 или в несколько десятков раз, однако окончательная концентрация устанавливается на низком уровне.

Можно было предположить, что идет не процесс самовоспроизведения активного начала, а какого-то рода активация затравки в аминокислоте. Однако факты говорят именно в пользу построения новых активных соединений, т. е. самовоспроизведения затравки.

Через несколько минут после внесения затравки в свежую аминокислоту возникает митогенетическое излучение, длящееся несколько минут, которое, как мы знаем из основного механизма излучения, связано с рекомбинациями свободных радикалов. Действительно, при этом в эмиссионном спектре обнаруживается полоса, характерная для свободного гидроксила; применение же метода селективного спектрального анализа обнаруживает полосы свободной карбонильной группы и аминогруппы.

Другими словами, одной из первых фаз процесса является расщепление аминокислоты на отдельные реакционноспособные элементы, которые с большим основанием можно рассматривать как адекватный строительный материал для формирования по определенному образцу более высокомолекулярного соединения. Известное количество свободных радикалов, не утилизируемое на построение сложных соединений, рекомбинируется, давая при этом фотоны митогенетического излучения.

Энергия фотонов очень существенна, по-видимому, для дальнейшего течения процесса, так как подавление излучения путем введения тушителя прекращает, или, во всяком случае, значительно ослабляет процесс аутокатализа (П. А. Шершнев, 1947).

Способность различных нативных ферментов к самовоспроизведению в различных аминокислотах (включая, как мы знаем, и самые простые) позволяет охарактеризовать последние как своеобразные субстраты для ферментов. Другими словами, понятие активных центров ферментативной молекулы расширяется этими данными и, вместе с тем, подчеркивается необходимость допущения взаимной зависимости центров.

Принципиальный интерес этих данных и их значение для биохимии являются, с нашей точки зрения, несомненными.

Остановимся коротко на некоторых фактах, еще больше обосновывающих существенную аналогию ферментоидов с активными центрами истинных ферментов. Общность свойств уреазы и ее ферментоида, помимо полного совпадения спектров излучения, возникающего при прибавлении к мочевине, заключается в следующем: фермент и ферментоид несут одинаковый заряд (отрицательный). Оба активируются прибавлением небольшого количества цианистого калия и угнетаются анионами никеля, кадмия и цинка. Активирующее действие цианистого калия наблюдалось также и при его добавлении к ферментоиду (так же как к ферменту), уже инактивированному действием солей перечисленных металлов (З В. Малеева, 1947).

Как известно, молекула аргиназы содержит в рыхлой связи атом марганца, отделимый от нее, например, путем диализа, после чего фермент инактивируется Исходя из этого, были проведены опыты по активации переносов аргиназы прибавлением некоторого количества марганца в виде сернокислой закисной соли (П А. Шершнев, 1947).

Перенос ферментоида давал при этих условиях при прибавлении к аргинину явную вспышку митогенетического излучения Митогенетические данные были подтверждены для ферментоидов уреазы и фосфатазы методом микрохимического анализа (А М Кузин, О И Полякова, 1947). В системах высокий перенос+ соответствую-

щий субстрат[1] авторы определили возникновение очень небольшого количества аммиака и свободного фосфора. Результаты, несмотря на их небольшую величину, были реальны. Соответственные разведения ферментов в физиологическом растворе не дали при прибавлении к субстрату достоверных результатов ни в одном случае.

Оптическим методом (спектрами поглощения) было показано также небольшое увеличение поглощения раствора глюкозы в области, типичной для поглощения молочной кислоты, после прибавления к глюкозе ферментоида гликолитического фермента (А. Г. Гурвич, А. А. Гурвич, 1945).

Переносы ферментоидов всех испытанных ферментов термолабильны в такой же степени, как и истинные ферменты.

Приведенные нами фактические данные, представляющие часть накопленного материала, не оставляют, таким образом, по нашему мнению, никакого сомнения в самой тесной связи между истинными ферментами и их ферментоидами.

Самовоспроизведение тирозина в гликоколе. Постановка вопроса вытекала из предыдущих данных — в состав молекулы ферментоида входит, как показал спектральный анализ, оксифенильная группа, которую можно было приписать тирозину. Изучение возможности самовоспроизведения в растворе гликокола свободного тирозина (вернее его оксифенильной группы) являлось поэтому не только естественным, но представляло и большой интерес

Преимущества работы с таким простым соединением заключались в следующем-

1. Таким путем можно было составить представление о степени универсальности явления аутокатализа. Как матричный принцип построения подобных себе молекул, так и возможность построения молекул одного типа «ведущими» молекулами другого типа широко изучаются и дискутируются в настоящее время. При этом речь идет о больших молекулах (ДНК или даже молекулярные комплексы) Рассмотрение и экспериментальное исследование, с этой точки зрения, простых молекул,

---

[1] Высокими переносами считают пассажи, начиная с 8-го и далее.

которые могли бы внести ясность в энергетику и механизм явления, однако, не проводится.

2. Вместе с тем, представлялось возможным, что изучение аутокатализа тирозина может быть доступно, наряду с митогенетическим методом, и другим методом исследования.

Начнем с спектрального анализа переносов тирозина (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959). Предварительное изучение водных растворов тирозина показало, что пороговой концентрацией, при которой еще ясно обнаруживается типичный для него спектр, является приблизительно 10^{-9} по весу. Тирозин в растворе гликокола еще обнаруживается спектральным методом при разведениях в 10^{12}—10^{14} раз. Приведем результаты опыта, в котором исследовался перенос тирозина с разведением в 10^{12} раз (табл. 4).

ТАБЛИЦА 4

Спектр излучения переноса (разведение в 10^{12} раз) тирозина в гликоколе

Длины волн	Эффект излучения в %	
	сейчас же после прибавления к гликоколу	через 30 *мин*
2720—30 Å	7	51
2770—80 Å	0	39
2780—90 Å	12	41

Утверждение, что самовоспроизведение тирозина (оксифенильной группы) идет за счет гликокола, позволяет сделать некоторые, доступные экспериментальной проверке, выводы. Является вполне правдоподобным, что молекула тирозина строится за счет восьми молекул гликокола (по числу CH_2 групп), кроме того, при этом используются одна аминогруппа, одна карбоксильная группа и одиннадцать атомов водорода. Таким образом, наряду с построением молекулы тирозина, могут идти еще другие реакции, т. е. дополнительные рекомбинации неиспользованных свободных радикалов и атомов. Можно ожидать, что по крайней мере некоторые из возникших таким путем соединений могут быть обнаружены. Примерный энергетический расчет показывает,

что общий баланс при допущении таких побочных рекомбинаций резко положителен, т. е. затрата энергии на расщепление восьми молекул гликокола покрывается с избытком приблизительно в 100 *ккал/моль* образованием молекулы тирозина и следующих возможных молекул: муравьиной кислоты, формальдегида, гидразина, гидроксиламина, аммиака, окиси углерода.

Таким образом, легко представить условия, при которых процесс аутокатализа тирозина является термодинамически выгодным. Методом спектрального анализа удалось действительно обнаружить в высоких переносах, наряду с оксифенильной группой, и полосы, характерные для гидроксиламина и формальдегида.

В случае тирозина, так же как и при аутокатализе ферментоидов, первые фазы процесса представляют собой активную реакцию между затравкой и субстратом, которая должна быть связана с возникновением излучения. При проведении экспериментов выяснилась следующая интересная закономерность: внесение в гликокол циклических соединений (пиридин, пролин, триптофан, индол, тимин, глицил-ангидрид, пиррол, тирозин, аденин) сопровождается вспышкой излучения, в то время как при внесении соединений с открытой цепью излучения не возникает (аргинин, креатин, глютамингидрохлорид, глицил-глицин).

Применение метода переносов к аденину, пирролу и индолу показало их способность к аутокатализу в растворе гликокола. Остальные соединения пока не исследованы.

Описанные факты, с нашей точки зрения, убедительно показывают возможность самовоспроизведения простых циклических органических соединений за счет гликокола. Энергия активации, обуславливающая возникновение первых фаз процесса (возникновение свободных радикалов и их рекомбинаций), приводящих к возникновению митогенетического излучения, дается, по-видимому, длинноволновым ультрафиолетом, присутствующим в дневном свете и поглощаемым циклическими соединениями. Это следует из того, что внесение циклических соединений в гликокол в полной темноте не приводит к возникновению вспышки митогенетического излучения.

Исследованные циклические соединения соответствуют тем требованиям, которые, судя по литературным данным, предъявляются к молекулам-матрицам: они плоски и доступны с обоих сторон к подходу для элементов субстрата.

Дальнейшая работа развивалась в различных методических направлениях и показала возможность применения и других методов — химического и оптического. При этих условиях процесс аутокатализа тирозина изучался в первом переносе.

Спектры поглощения в ультрафиолетовой области. Раствор тирозина в разведении 10^{-5} прибавлялся к растворам гликокола различных концентраций (А. Г. Гурвич, А. А. Гурвич, 1959). Молярное соотношение тирозина к гликоколу выражалось при этом в следующих цифрах:

0,025%	гликокола	. . . 1:60
0,5%	»	. . . 1:1000
2,0%	»	. . . 1:4000

Параллельно делались идентичные растворы тирозина в воде. Поглощение тех и других растворов фотографировалось в толстом слое (15 *см).* Стабилизированный источник излучения обладал непрерывным эмиссионным спектром. Измерение поглощения производилось фотометрическим путем, при этом из величины, характеризующей поглощение тирозина в гликоколе, вычиталась величина поглощения гликокола (снималась в том же опыте, на той же пластинке) и из поглощения тирозина в воде вычиталось поглощение воды. Экспозиции производились через 30—40 *мин* после присоединения тирозина к гликоколу и соответственно к воде. Кривые характеризующие результаты и являющиеся средними из большого числа опытов, показывают, что поглощение тирозина в характерной для него области (2700—2800 А) проявляется яснее всего в 2% растворе гликокола. При этом увеличение поглощения по сравнению с поглощением тирозина в воде или в наиболее слабом растворе гликокола достигало 50—80% (рис. **9).**

Метод бумажной хроматографии. Большое число опытов было проведено на нисходящих хроматограммах. Растворителем служил воднонасыщенный раствор бутанола, проявителем — нингидрин. Молярное **соот-**

ношение тирозин-гликокол (1%) лежало в границах 1 : 300—1 : 500. Смесь тирозина и глнкокола приготовлялась за 30—40 *мин* до нанесения на хроматограмму.

Контролями служили соответственные водные растворы тирозина. На бумагу повторно, с промежуточными высушиваниями, наносились небольшие объемы

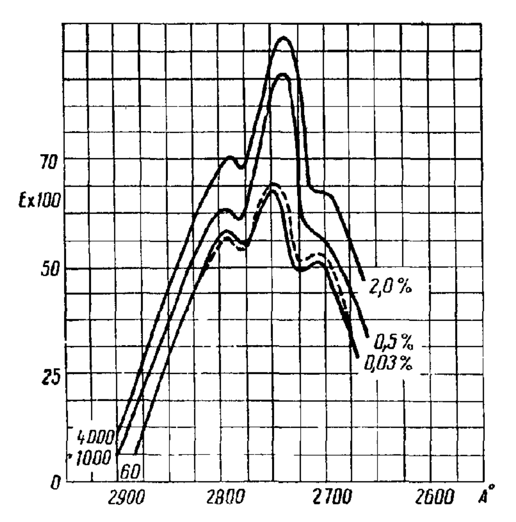


Рис. 9. Кривые поглощения тирозина при его самовоспроизведении в растворах гликокола (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

Нарастание поглощения при увеличении концентраций гликокола. Контрольная кривая дана пунктиром. По оси ординат — коэффициент поглощения.

смеси с таким расчетом, чтобы контрольное пятно содержало 12—15 *у* тирозина. В большинстве опытов для полной сравнимости диффузии аминокислот на бумаге на высохшее пятно тирозина наносилось соответствующее количество гликокола.

Рис. 10 иллюстрирует один из большого количества опытов. Здесь ясно видно увеличение пятна тирозина отдиффундировавшего из опытной смеси. В преобладающем числе опытов были получены положительные результаты с различной степенью яркости.

Адсорбция тирозина на угольной колонке и последующая его элюация. Результаты, полученные этим

методом, кажутся нам наиболее убедительными, так как они позволяли количественные промеры прироста тирозина по сравнению с исходным. Сравнивались три порции с равными количествами тирозина (8 *мг),* одна из которых содержала, кроме того, гликокол (2,5% рас-



Рис 10 Хроматограмма тирозина (А. Г Гурвич, Л Д Гурвич, 1959)

Слева (внизу) —после самовоспроизведения в растворе гликокола справа (внизу) — контрольный тирозин (гликокол нанесен на бумагу после того как раствор тирозина высох)

твор), две других соответственные объемы воды. Молярное соотношение тирозина к гликоколу равнялось 1 600. Опытный раствор и один из водных растворов пропускались после соответствующей выдержки через угольные колонки, тирозин элюировался, и после соответствующей обработки и окраски всех трех порций они фотометрировались при разных разбавлениях. Не

ТАБЛИЦА 5

Тирозин, элюированный с угольных колонок

Номер опыта	Содержание тирозина в %	
	в опытном растворе (в гликоколе)	в контрольном растворе (в воде)
1	108	85
2	110	91
3	104	90
4	102	89
5	99	
6	107	
7	104	–
8	106	
9	111	
10	103	98
11	112	88
12	97	88
13	100	95
Среднее	105,5	91,5

пропущенный через колонку водный раствор тирозина считался 100%, с ним сравнивались второй водный контроль и опытная порция Приведенные цифры в контрольной колонке таблицы (табл. 5) (все ниже 100%) показывают на неизбежные потери некоторого количества тирозина, в большинстве опытов, наоборот, получился прирост, который можно рассматривать только как результат увеличения количества тирозина после его пребывания в гликоколе. Таким образом, средняя разница достигает почти 15%, т. е. является совершенно достоверной величиной.

Применение меченого гликокола. Результаты, полученные этим методом, нельзя рассматривать как законченные, но они позволяют думать, что и этим методом аутокатализ тирозина в гликоколе может быть показан с полной отчетливостью. Употреблялся гликокол **с** меченым углеродом (C^{14}) в карбоксильной группе. Радиоактивный гликокол смешивался с обычным в отношении 1 : 10. Молярные соотношения тирозина к гликоколу равнялись приблизительно 1 :500. Контролем в данной серии **опытов служила такая же смесь** простого

и радиоактивного гликокола (без тирозина). Для возможно более полного отделения тирозина от гликокола, что в данном случае было особенно важно, производилось повторное хроматографирование и опыта, и контроля. Для этого участки бумаги первых хроматограмм, соответствующие тирозиновому уровню, вырезались, тщательно отмывались в горячей воде, отмывы концентрировались и наносились на вторую бумажную ленту.

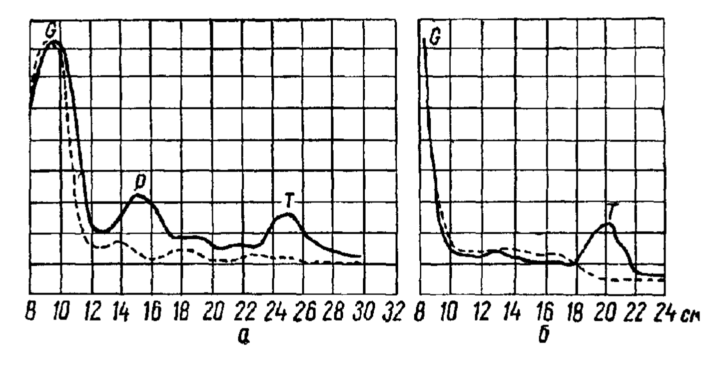


Рис. 11. Самовоспроизведение тирозина в меченом гликоколе (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

а — без гидролиза; б — после гидролиза.
По оси ординат — концентрация в условных единицах (сплошная линия — опытная смесь, пунктирная — контрольная смесь).
О — гликокол; Р — предполагаемый пептид; Г — тирозин (на абсциссе длина бумажной ленты в *см)*.

Радиоактивность готовых хроматограмм измерялась на счетчиках излучения по всей длине лент. После этого хроматограммы проявлялись и сопоставлялись результаты счета и красочной реакции.

Данные четырех опытов показали следующую картину: высокий пик активности соответствует остаточному гликоколу. Чему соответствует значительно более низкий, близкий к гликоколу пик, не представляется пока ясным; возможно, что он соответствует пептидам, синтез которых шел параллельно с аутокатализом тирозина, третий пик активности, тоже низкой интенсивности, соответствует по своему положению тирозину, В двух следующих опытах был проведен гидролиз отмыва от первой хроматограммы. На окончательной хро-

матограмме пик, предположительно приписываемый пептидам, не проявился (рис. 11).

Тирозиновый пик превышает радиоактивность фона в 1,8—2 раза, т. е. выходит за пределы погрешности метода. Расчеты, учитывающие активность меченого гликокола, показывают, что прирост тирозина достигает 4—5%, т. е. дает более низкую величину, чем распределительная хроматография на угольной колонке. Представляется вполне вероятным, что при других условиях результаты могли бы быть ярче. Более целесообразным было бы, например, применение гликокола, маркированного по углероду в метиленовой группе, так как для построения молекулы тирозина нужны, согласно основному представлению, восемь молекул гликокола, соответствующих необходимому количеству метиленовых групп.

Но вся совокупность приведенных разнообразных данных достаточно прочно обосновывает представление об аутокатализе тирозина за счет элементов молекулы гликокола. В этом смысле наибольшее значение имеют, по нашему мнению, митогенетические данные, так как спектральный анализ дает доказательство возникновения свободных радикалов, т. е. строительных кирпичей, утилизирующихся в последующих стадиях процесса.

ГЛАВА 2. Анализ митогенетических эффектов в живых системах

Вполне естественно было ожидать, что митогенетические явления в организованных (живых) системах более сложны и труднее поддаются анализу, чем в растворах. Уже в первые годы исследований встали два основных вопроса: 1) можно ли с полной уверенностью утверждать, что регистрируемое излучение непосредственно, или во всяком случае косвенным путем, отражает именно внутриклеточные процессы или внутриклеточное состояние субстрата? 2) Чем объяснить различную способность систем к излучению, связанную в некоторых случаях с изменениями функциональных состояний, а в некоторых системах сводящуюся к постоянному отсутствию изучения?

Обоснованность первого вопроса очевидна. Несомненно, целый ряд объектов омывается тканевыми жидкостями, поглощающими ультрафиолетовое излучение, наряду с этим, многие имеют оболочки различной толщины и характера, тоже, конечно, поглощающие ультрафиолет (особенно это относится к мякотным оболочкам нервных волокон).

Вместе с тем, однозначность связи между функциональными состояниями систем и спектрами митогенетического излучения твердо установлена. Мы имеем при этом главным образом в виду многочисленные и разнообразные наблюдения над зависимостью эмиссионных спектров мозговой коры и периферической нервной системы от их функционального состояния. Не менее убе дительны факты, о которых мы будем еще подробно говорить: спектры излучения печени, возникающего при определенных условиях, необычайно тонко и быстро реагируют на введение под кожу ничтожных количеств некоторых веществ, излучение растительных клеток возникает в ряде случаев только при движении протоплазмы.

Все эти результаты совершенно однозначно показывают, что улавливается излучение, специфическое для процессов в глубинных слоях клеток. Наиболее есте-

ственно и вероятно представление о том, что излучение внутреннего субстрата, поглощаясь поверхностными слоями, вызывает в них вторичное излучение, улавливаемое внешними детекторами. При этом встает вопрос о соответствии спектрального состава первичного и вторичного излучения.

Предположение о некоторых сдвигах и изменениях спектрального состава является вероятным. Но, вместе с тем, мы располагаем экспериментальными данными, полученными на вырезанной твердой мозговой оболочке кролика и на вырезанной брыжжейке лягушки, показывающими не только ясное возникновение вторичного излучения, но и соблюдение резонансности, т. е. воспроизведения в спектре вторичного излучения оболочек тех полос, которыми они первично облучаются.

Перейдем к вопросу о постоянном отсутствии излучения некоторых органов (печень, почка) и временной потери способности к излучению клеткой (например, при остановке течения протоплазмы в растительной клетке). Один из наиболее интересных и важных вопросов о временной потере излучения клеткой в средние фазы интеркинеза и возникновении вспышки излучения перед митозом мы рассмотрим более подробно в главе, посвященной клеточному делению.

Наиболее вероятное представление, опирающееся на модельные данные, заключается в следующем. Для возникновения фотонов ультрафиолетового уровня необходимо сочетание условий, осуществляющееся не так часто: во-первых, достаточно высокое возбуждение молекул, которое может быть достигнуто поглощением энергии высокотеплотных актов (рекомбинаций свободных радикалов) или суммацией небольших квантов энергии, в том случае, если субстрат представляет собой адекватную для этого, т. е. упорядоченную молекулярную систему. Во-вторых, способность субстрата высветить хотя бы часть энергии молекулярного возбуждения. Выше уже говорилось о том, что даже при наличии достаточных по теплотности квантов энергии высвечивание этой энергии может осуществляться только при соответствующей дисперсии субстрата. Ряд модельных опытов показывает, что высокомолекулярные тела-белки, нуклеиновые кислоты, гликоген не являются хемофлуоресцентами, т. е. не способны высвечивать поглощенную

ими энергию Соответственно этому зависимость между величиной и сложностью молекулы и ее способностью к высвечиванию поглощенной химической энергии ясно выражается в явлении неполноты спектров. Особенно демонстративно это проявляется на спектре, характеризующем хемилюминесценцию пептидной связи. Полный набор полос (9) был установлен при изучении хемилюминесценции простейшего дипептида-глицил-глицина и подтвержден на глицил-тирозине. Взятый для сравнения анилид стеариновой кислоты (более сложное соединение не пептидного характера, содержащее, однако, аналогичную связь между углеродом и азотом) дал только семь спектральных полос из соответствующего набора. Для слабого, т. е. частично, диссоциированного раствора белка характерен еще более бедный спектр, состоящий из четырех полос.

Наряду с этим, процессы синтеза, например образование пептидов, не сопровождаются излучением, особенно если они имеют цепной характер, так как энергия, возникающая при экзотермических актах, почти полностью расходуется на дальнейших этапах процесса.

Несомненно, что значительное преобладание и разнообразие процессов синтеза в нормально функционирующей печени должно очень сильно понизить ее способность к митогенетическому излучению. Однако несомненно также, что процессы гидролиза, хотя и отступающие на задний план, протекают все-таки в какой-то степени непрерывно, т. е. какая-то не высокая, по сравнению с другими биологическими системами, насыщенность печеночных клеток фотонами излучения существует. Нужно, очевидно, предположить, что вероятность встречи двух сравнительно редких событий — выделения кванта энергии достаточной теплотности и поглощения его молекулой, способной эту энергию высветить в виде митогенетического излучения, — настолько мала, что практически мы не обнаруживаем спонтанного излучения. Одно из экспериментальных подтверждений этого представления заключается, например, в том, что подкожное введение животному глюкозы, являющейся хорошим флуоресцентом и быстро попадающей в печень, приводит к возникновению излучения печени, длящемуся несколько минут.

Ясную корреляцию между течением протоплазмы растительных клеток и их способностью к излучению естественнее всего объяснить обратимыми процессами комплектизации субстрата.

Спонтанно излучающие живые системы, в сущности говоря, уж не так многочисленны, но биологически они очень важны. К ним относятся, помимо обсуждавшихся выше, животные и растительные ткани, в которых происходят клеточные деления, регенерирующие ткани[1]; делящиеся культуры простейших (дрожжей и бактерий); опухолевые ткани. Наряду с этим излучает нервная система (центральная и периферическая), мышечная система (скелетные мышцы и сердечная мышца); кровь.

Мы говорили уже в введении о том, что, несколько схематизируя, можно выделить два аспекта биологического значения излучения — роль фотона как энергетического фактора, резко превышающего по своему уровню макроэргические связи, и, наряду с этим, значение излучения как фактора, информирующего об энергетическом и структурном состоянии молекулярного субстрата.

В явлениях, которые целесообразно рассматривать как последовательность событий, начинающихся с какого-то старта, например последовательность процессов, приводящих к клеточному делению, нужно, несомненно, уделять очень большое внимание энергетической роли фотона как необходимого, т. е. причинного, звена в цепи процессов.

При анализе взаимодействия функциональных элементов, связанных с нервно-мышечным возбуждением, основное значение приобретает структурно-энергетическое состояние субстрата.

Сейчас перед нами стоит еще одна задача общего характера — рассмотрение тех последствий, к которым приводит митогенетическое облучение биологических объектов и возможный анализ процессов, вызываемых облучением.

Лишь в биологических системах осуществляется переход эффектов из микрообласти, наблюдаемой на растворах, в макрообласть Рассмотрим коротко эти явления,

---

[1] Данные Л Я. Бляхера и его школы (1930, 1932).

более полное изложение которых можно найти в ряде публикаций. Наиболее замечателен эффект облучения половых продуктов морских ежей до оплодотворения (J. et M. Magrou, 1931, 1936). Особенно интересно в этом отношении предварительное облучение спермы нормальных яиц, которое приводит к возникновению резко аберрантных форм личинок. В типах личинок

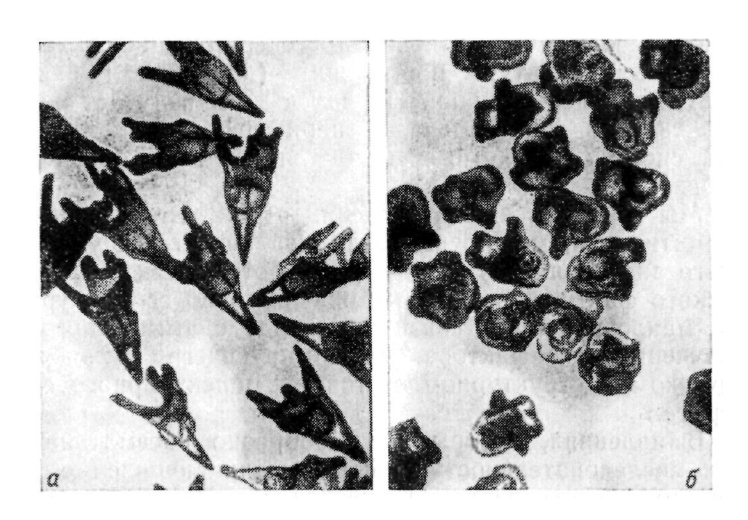


Рис. 12. Личинки морских ежей, яйца которых о.июдотворялись.

а — нормальной спермой (контроль); б — спермой, предварительно облученной митогенетическим источником (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

наблюдались закономерные различия в зависимости от того, подвергались ли облучению яйцо или сперма (рис. 12). Резкие уродства, полученные вследствие облучения уже развивающихся личинок, являются прямым следствием чрезмерного размножения мезенхимных клеток (рис. 13).

Облучение дрожжевых клеток в жидкой питательной среде приводит, при определенных условиях опыта, тоже к ярко выраженному макроэффекту — значительному усилению размножения дрожжевых клеток (М. А. Барон, 1929). При более длительном облучении размножение клеток тормозится и своеобразный макро-

эффект проявляется в виде вакуолизации клеток (А. А. Букатина, 1938). Ускорение роста и размножения под воздействием митогенетического облучения наблюдается и на культуре плесеней (А. П. Потоцкая,

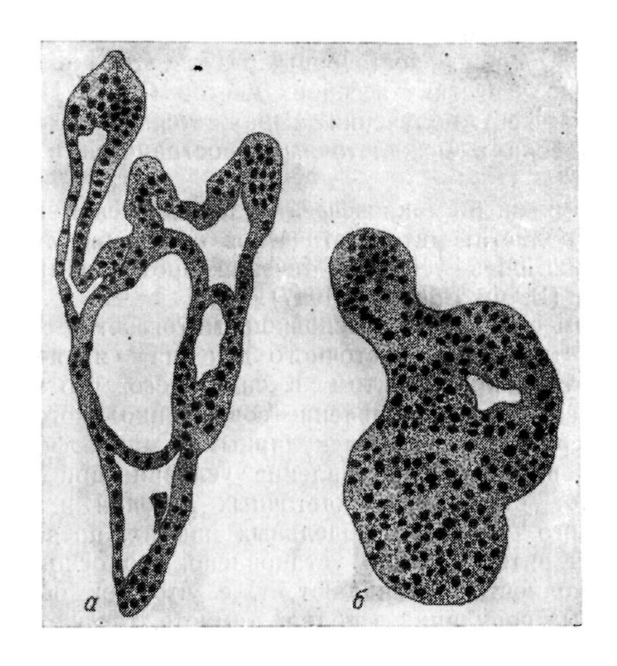


Рис. 13. Сагиттальный срез через личинку морского ежа (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

а — контроль; б — срез через личинку, облученную на ранней стадии развития; скопление мезенхимных клеток.

1936). Интерес и ясность эффектов обусловливалась в этом случае возможностью прослеживания морфологических изменений.

Одним из наиболее важных в биологическом отношении макроэффектов следует считать повышение проницаемости клеток под влиянием митогенетического излучения. Облучение экстирпированной печени мыши приводит к повышенному (приблизительно в 10 раз) выходу в окружающую жидкость глюкозы и фосфатов,

определяемых химическими методами (И. Р. Бахромеев, 1935).

Повышение выхода пигмента наблюдалось при облучении тонких ломтей красной свеклы (А. П. Потоцкая, 1936). Измерение производилось путем колориметрирования. Менее постоянны, но, по-видимому, в отдельных случаях достоверны результаты, полученные на тонких лепестках весенних цветов (А. П. Потоцкая, 1936). Эффект облучения выражается в выходе клеточного сока в межклеточные пространства и отчасти в воду.

Несомненный макроэффект наблюдается и в совсем другой области: митогенетическое облучение листа водоросли Elodea ускоряет течение протоплазмы в его клетках (В. Ф. Еремеев, 1947).

Разумеется, что и основной митогенетическии эффект — стимуляция клеточного деления — является, по-существу, макроэффектом в силу того, что деление клетки само по себе явление совершенно иного порядка по сравнению с молекулярными микроэффектами. Именно поэтому сопоставление условий, при которых возникает стимуляция клеточных делений и процесс пептидного синтеза в модельных опытах, представляет большой интерес. Было установлено, что основные условия полностью совпадают, т. е. что при облучении клеточных популяций в полной темноте, так же как при облучении смеси аминокислот в полной темноте, требуются фотоны с энергией не меньшей 105 *ккал/моль* (2700 Å), в то время как при подсвечивании, т. е. активации видимым или даже инфракрасным светом, и в том и в другом случае достаточно дать митогенетическое облучение с энергией фотонов в 85—87 *ккал/моль* (3250 Å) (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1945, 1959).

Такое точное совпадение условий не оставляет ни малейшего сомнения в том, что поглощенный фотон дает старт процессу синтеза пептидов в клетке. Но в то время как в условиях модельного опыта реакция обрывается на ничтожной достигнутой концентрации поликонденсата, в клетке она приводит к оставляющему ясные микроскопические следы обогащению протоплазмы пластическим материалом, необходимым для ее деления.

Объяснить это явление можно двумя путями: 1) цепная реакция синтеза пептидов, вызванная поглощением фотонов, сама по себе кратковременна и обрывается, но она служит как бы стартом для новой эндогенной реакции при участии собственных клеточных ферментов; 2) вызванная фотоном реакция встречает в клетке условия, позволяющие ей протекать долгое время, не обрываясь.

Первая концепция, конечно, вполне возможна, но она не указывает путей для ее проверки и дальнейших исследований, вторая, наоборот, открывает возможности для дальнейших обобщений.

Рассмотрим некоторые явления, полученные на различных объектах, затрагивающие различные процессы и позволяющие с большим основанием думать о специально благоприятных условиях для развития цепных процессов в живых системах.

ЦЕПНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ

Облучая небольшой участок нерва, мы можем вызвать в нем вторичное излучение, распространяющееся без всякого декремента на большое расстояние. Субстратом процессов являются при этом, очевидно, нейрофибриллы, т. е. элементы, по своим параметрам (малый диаметр и большая длина) как раз неблагоприятные для распространения любых состояний. Следовательно, нужно допустить, что в субстрате имеются какие-то специально благоприятные условия для распространяющихся процессов. Экстраполируем это допущение на другие объекты.

Цепной характер синтеза пептидов в клетках печени

На основании большого экспериментального материала (В. Ф. Еремеев, 1958) можно с полной уверенностью говорить о стимуляции синтеза пептидов в печени живого животного под влиянием митогенетического облучения. Печень нормально питающегося сытого животного (мышь) не излучает. Наиболее вероятное объяснение заключается, как уже говорилось выше, в отсутствии достаточного количества флуоресцентов,

т. е, сравнительно низкомолекулярных соединений, способных высвечивать поглощенную энергию. Малое количества флуоресцентов обуславливается преобладанием в клетках печени процессов синтеза. Однако после 5—6 *ч* голодания в печени мыши возникает излучение, спектральный анализ которого показывает наличие концевых групп пептидов $R-NH_2$ и R—OH, т. е. начинается постепенно усиливающийся процесс расщепления высоких пептидов, продукты которых уже способны флуоресцировать. За несколько часов до гибели животного (при продолжающемся голодании) происходит, очевидно, частичная компенсация процесса расщепления вследствие собственного митогенетического режима, стимулирующего, как мы знаем, процессы синтеза, однако с постепенным сдвигом состояния динамического равновесия в сторону расщепления.

Применение селективного спектрального анализа в более ранние сроки голодания, не связанные еще с излучением печени, показало, что концевые группы пептидов могут быть обнаружены на 1 —1,5 *ч* раньше начала спонтанного излучения. Этот факт очень важен, так как он дает возможность митогенетического облучения печени извне и таким образом проверки «синтезирующего» действия излучения (табл. 6).

ТАБЛИЦА 6

Полосы концевых групп пептидов в спектре излучения печени голодной мыши

Время с начала голодания в часах	Спонтанное излучение $R-NH_2$ в %		Селективное рассеяние в %	
	2060-70 Å	2260-70 Å	2060—70 Å	2260—70 Å
4	1	2	11	10
4,5	2	7	42	32
5	15	1	35	59
5,5	41	55	46	46

Примечание. Пороговые экспозиции в этих опытах равнялись 10—12 *сек*

В течение получаса, приблизительно между 4 *ч 15мин* и 4 *ч* 45 *мин* после начала голодания, печень живого животного подвергалась митогенетическому облучению

и вслед за этим селективному спектральному анализу на наличие концевых аминогрупп.

Судя по увеличению пороговых экспозиций, являющихся, как известно, критерием оценки интенсивности излучения, т. е. косвенно и количества соответствующих флуоресцентов, облучение приводит к несомненному уменьшению концевых групп, т. е. сдвигу в сторону синтеза пептидов. В табл. 7 приведены три отдельных опыта.

ТАБЛИЦА 7

Полосы концевых групп пептидов в спектре селективного рассеяния печени голодной мыши после облучения

Время после начала голодания	Экспозиция в секундах	Излучение полос в %	
		2060-70 Å	2060-70 Å
4 ч 45 *мин*— 5 *ч*	**20** **25** **30**	**5** **5** **41**	**−4** **2** **42**
4 *ч* 45 *мин*— 5 *ч*	**25** **30**	**—6** **41**	**—2** **27**
4 *ч* 45 *мин* — 5 *я*	**25** **30**	**1** **30**	**12** **26**

Приведенные цифры характеризуют селективное рассеяние той же стороны печени, которая подвергалась облучению. Большой интерес представляли дальнейшие совершенно аналогичные данные, получаемые с вентральной стороны печени при облучении дорсальной. Они показывают, что процесс стимуляции ресинтеза пептидов захватывает всю толщу облучаемой доли печени, т. е. является, несомненно, выраженным цепным процессом.

Дальнейшие опыты показали, что и при искусственном поступлении в печень пептидов (подкожное введение слабых растворов пептона) митогенетическое облучение печени извне уменьшает длительность той спонтанной вспышки излучения печени, которая возникает после введения пептидов и которую можно объяснить только как временное появление в клетках печени

соединений, способных к флуоресценции. Другими словами, облучение ускоряет переход низкомолекулярных соединений в более высокомолекулярные, способность которых к флуоресценции, как мы знаем, значительно понижена.

Цепной характер синтеза пептидов в растительных клетках

Стимуляция синтеза пептидов и цепной характер этих процессов был показан также на большом и разнообразном материале, полученном на растениях. Непосредственным толчком к экспериментальной работе в этом направлении явились очень интересные данные (Н. М. Передельской, 1954). Анализ давно установленной способности зеленых ростков высвечивать митогенетическое излучение только на свету показал, что эта зависимость обусловливается суммацией энергии фотонов видимой области до уровня ультрафиолетового излучения, причем энергия суммируется молекулами пигментов. По пути между источником видимого света (ультрафиолетовая часть излучения отфильтровывалась толстыми стеклами) вставлялась стеклянная кювета с кварцевой стенкой, обращенной к биодетектору. При заполнении кюветы водой митогенетического эффекта на детекторе не обнаруживалось, однако, при заполнении растворами хлорофилла или каротина на детекторе обнаруживался ясный эффект. С помощью спектрального разложения подаваемого на раствор света и митогенетического излучения раствора было показано, что происходит приблизительное удвоение энергии, т. е. примерная суммация энергии двух фотонов видимого света до уровня энергии ультрафиолетового фотона (общая интенсивность видимого света превышала на несколько порядков интенсивность митогенетического излучения).

Такой же эффект суммации наблюдался при освещении листьев на целом растении и на отрезанных листьях. Эти результаты и классические данные физиологии растений, говорящие о том, что в освещенном листе интенсивно идут процессы синтеза, включая и синтез пептидов, в то время как в затемненном преобладают процессы распада, делали очень вероятным представ-

ления о том, что биологическое значение возникающего в листе митогенетического излучения заключается, главным образом, в стимуляции процессов синтеза. Экспериментальные возможности подтверждения этого представления были разнообразны и они дают убедительную картину (А. Г. Гурвич, А. А. Гурвич, 1959).

Было показано сначала, что пороговые экспозиции для обнаружения концевых групп пептидов значительно ниже в листе, подвергнутом длительному затемнению, чем в освещенном листе, что можно было трактовать только как большую степень дисперсности пептидов при затемнении и наоборот их укрупнение при освещении листа.

На основании этого сравнительно изучались следующие листья: 1) лист, находившийся сутки в темноте, 2) лист, освещавшийся это же время лампой, 3) лист, находившийся 10—12 *ч* в темноте и затем подвергавшийся в условиях темноты в течение 12 *ч* митогенетическому облучению.

Все три листа подвергались после этого возможно более быстрому (как и в первой серии опытов) спектральному анализу селективного рассеяния для установления относительных интенсивностей полос, характеризующих концевые группы пептидов (табл. 8).

Мы видим из цифровых данных, что митогенетическое облучение вызывает эффект, аналогичный освещению,— уменьшение количества концевых групп пептидов, которое можно рассматривать только как результат усиления процессов синтеза.

В связи с этим встает следующий вопрос. Если значительная часть энергии видимого света утилизируется пигментированными частями растения в виде фотонов ультрафиолетового излучения, то можно было предположить, что введение в растительный организм соединений, поглощающих ультрафиолетовую область, приведет, несмотря на наличие видимого света, к торможению процессов синтеза.

Целый ряд органических соединений поглощает, как известно, лучи ультрафиолетовой области спектра, причем специфика в распределении поглощения выражена в некоторых случаях очень ясно Очень интересной в этом отношении является салициловая кислота, обладающая двумя ясно выраженными областями поглощения-

ТАБЛИЦА 8

Полосы концевых групп пептидов в спектрах листьев различных растений

Растение, концевая группа	Условия опыта								
	темнота			освещение			облучение		
	экспози- в *сек*	излучение (%) полос		экспози в *сек*	излучение (%) полос		экспози- ция в *сек*	излучение (%) полос	
		2060—70 Å	2260—70 Å		2060—70 Å	2260—70 Å		2060—70 Å	2260—70 Å
Примула ($R-NH_2$)	10	8	4	—	—	—	20	4	3
То же	12	44	41		—		25	33	32
Овес ($R-NH_2$)	25	33	36	25	5	8	25	2	5
То же	—	—	—	35	3	4	35	9	0
		излучение (%) полос			излучение (%) полос			излучение (%) полос	
		1980—90 Å	2040-50 Å		1980—90Å	2040—50Å		1980—90 Å	2040—50Å
Бегония (R-OH)	10	34	33	12	—6	8	12	3	1
То же	12	36	16	20	—10	9	20	2	2
» »	—	29	26	25	20	25	25	38	26

Примечание. Цифры выражают среднее из нескольких опытов.

ею поглощается весь короткий ультрафиолет, приблизительно до 2400Å и в длинноволновом диапазоне область 2800—3200 Å, в промежуточной области (от 2500 до 2700 Å) поглощение значительно меньше (рис. 14). Это своеобразное спектральное распределение поглощающей способности могло быть использовано для дальнейших экспериментальных исследований. Если правильно исходное представление о том, что

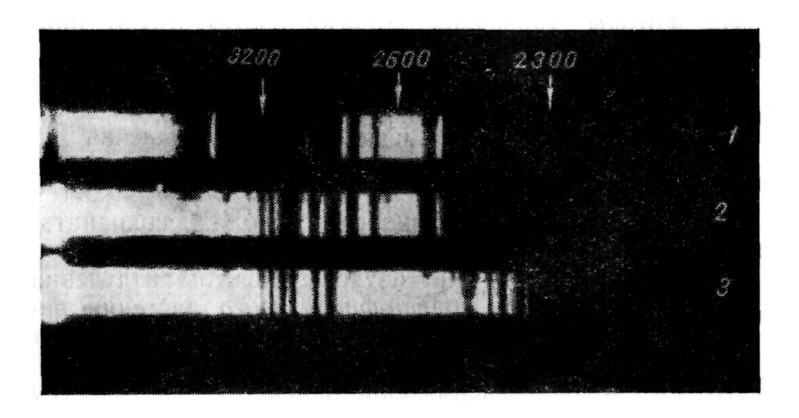


Рис. 14. Спектры поглощения эквимолярных растворов (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

1 — салициловая кислота; *2* — ацетилсалициловая кислота; *3* — вода.

пигменты, суммируя с некоторыми потерями энергию двух фотонов видимого света до уровня ультрафиолетового фотона, предоставляют таким образом растению компактные пакеты высокой энергии, которые утилизируются на синтетические процессы, то такой селективный гаситель, как салициловая кислота, должен являться ингибитором этих процессов специально в зеленых растениях.

Действительно, как хорошо известно, хлорофилл (если отвлечься от некоторых различий в его поглощающей способности в клетке и в растворе) поглощает в основном красную и фиолетовую области спектра, максимумы которых характеризуются приблизительно 4600 и 6400Å. Удвоенная энергия фотонов этих областей соответствует по длинам волн приблизительно

2300 и 3200Å. Это как раз области максимального поглощения салициловой кислоты

Вместе с тем, салициловая кислота должна значительно меньше тормозить синтез пептидов у растений, обладающих преимущественно красными или красно-фиолетовыми пигментами. Действительно, область поглощения фикоэритрина, который мы берем в качестве хорошо изученного представителя этого типа пигментов, лежит между 4700 и 6000 Å (зеленая часть спектра). Фотоны удвоенной энергии соответствуют приблизительно области 2650Å ультрафиолетового спектра, для которой салициловая кислота значительно более прозрачна.

Другими словами, внутренний митогенетический режим зеленых растений должен быть сильно понижен при введении салициловой кислоты, в то время как у красных растений интенсивность его должна сохраниться приблизительно на прежнем уровне.

Предварительно были изучены спектры излучения листьев примулы и красно-фиолетового растения перилла, пигментированного, по-видимому, антоцианом при одинаковом освещении их видимой частью спектра.

Кривые распределения интенсивности по спектру имеют у обоих растений ясные максимумы и минимумы. Сопоставление их с литературными данными, характеризующими поглощение обоих пигментов в листьях, представляет большой интерес, так как оно еще раз ясно указывает на суммационный механизм возникновения митогенетического излучения. Двугорбая кривая излучения листа примулы полностью соответствует двугорбой кривой поглощения хлорофилла с учетом смещения в другую область спектра. Первая лежит в границах ультрафиолетовой области, вторая — в границах видимой области. Менее строгое соответствие у листа периллы обусловлено вторым максимумом излучения в более коротковолновой области, что не наблюдается в кривой поглощения (рис. 15). Однако это не нарушает принципиального значения наблюдаемых фактов.

После этих предварительных данных были проведены опыты по спектральному изучению концевых групп пептидов листьев примулы и периллы, через 15—20 *ч* после погружения их черешков в слабые (10^{-6}) раство-

ры салициловой кислоты. Во время всего опыта листья освещались отфильтрованным от ультрафиолетовой части спектра светом электрической лампочки средней интенсивности. Часть соответствующих контрольных листьев, находящихся в воде, освещалась, часть была помещена в темноту (табл. 9).

Мы видим, что судя по количеству концевых групп пептидов, салициловая кислота действительно тормозит

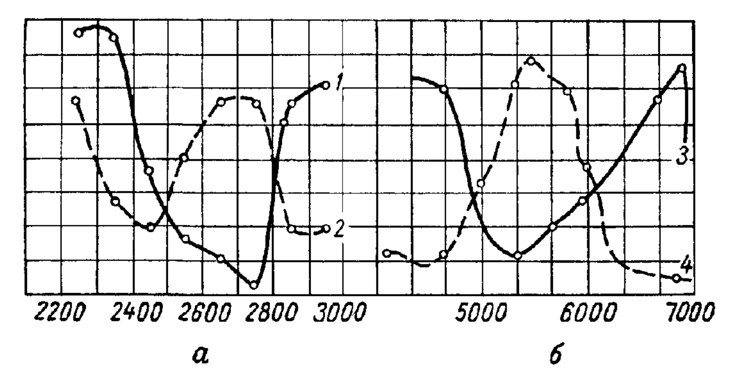


Рис. 16. Спектральное распределение интенсивности митогенетического излучения листьев примулы и periллы при их освещении видимым светом (а) и кривые поглощения растительных пигментов в видимой области *(б)* (Е. Рабинович, 1959).

1 — примула; *2* — перилла, *3* — хлорофилл в листьях; *4* — фикоэритрин. По оси ординат — коэффициент поглощения в условных единицах.

синтез пептидов в зеленых листьях, не оказывая сколько-нибудь заметного действия на этот процесс в красных листьях[1].

В противоположность этому другое органическое соединение — фурфурол, поглощающее почти одинаково всю ультрафиолетовую область, оказывает тормозящее действие на процесс синтеза и в зеленых, и в красных листьях.

Мы привели, таким образом, различные данные, говорящие в пользу того, что энергия фотонов видимого света суммируется в энергию митогенетического излучения, за счет которой идут процессы синтеза, во

[1] В связи с этими результатами вопрос о токсичности салициловой кислоты полностью отпадает.

ТАБЛИЦА 9

Полосы концевых групп пептидов в излучении листьев при различных условиях освещения и введения салициловой кислоты

Среда	Примула			Перилла		
	экспозиция в *сек*	эффект излучения аминогруппы в %		экспозиция в *сек*	эффект излучения аминогруппы в %	
		2060-70Å	2260-70Å		2060-70 Å	2260-70 Å
Вода — темнота	10	34	33			
Салициловая кислота — свет	10	54	50	10	6	6
То же	10	37	29	15	—5	2
» »	10	22	23	20	—2	9
» »	—	—	—	25	12	2
	—	—	—	30	50	38
Вода — свет	10	3	6			
То же	20	9	5	—	—	—
		эффект излучения гидроксильной группы в %			эффект излучения гидроксильной группы в %	
		1980-90 А	2040-50 Å		1980-90 А	2040-50 Å
Салициловая кислота — свет	10	56	23	25	3	5
То же	—	—	—	30	26	45

Примечание. Приводятся средние данные из нескольких очытов.

всяком случае синтез пептидов. Представлялось, однако, вероятным, что последствия митогенетического режима в листе не исчерпываются этим. В субстрате клеток должны находиться в известной концентрации свободные радикалы. Это следует и из общих соображений, так как мы знаем, что энергия ультрафиолетовых фотонов достаточна для отрыва функциональных групп от молекул, и из литературных данных.

В ряде работ описываются следующие очень интересные факты: яркое освещение листа видимым светом приводит к возникновению свободных радикалов (Commoner a. others, 1954). Слабая флуоресценция листа и хлорофилла, возникающая при определенных условиях

после освещения, рассматривается как хемилюминесценция (Strehler, 1951). Развивается точка зрения, что в основе слабой люминесценции прорастающих семян в видимой области лежат процессы, протекающие при участии свободных радикалов (Colli, Facchini e Rossi, 1954).

Одно из возможных и наиболее естественных предположений, объединяющих митогенетические данные с только что изложенными фактами, заключается в том, что радикалы возникают не непосредственно в результате поглощения молекулами энергии видимого света, а вследствие поглощения ультрафиолетовых фотонов, возникших за счет суммации видимых квантов.

Дальнейшие эксперименты обосновывают это предположение. Было показано, что длительное (30—40 *мин)* яркое освещение листа примулы или взвеси хлоропластов вызывает последующее (при помещении объекта в темноту) излучение, содержащее не только видимую слагаемую, наблюдавшуюся Strehler, но и ультрафиолетовую компоненту. Пороговые экспозиции, необходимые для обнаружения излучения, были очень короткими, т. е. излучение можно рассматривать как очень интенсивное (на митогенетическии масштаб) (табл. 10) Спектральное обнаружение свободных радикалов представлялось на основании этих данных возможным.

ТАБЛИЦА 10

Последующее излучение листьев и взвеси хлоропластов
(через 10 мин после помещения ***в темноту)***

Экспозиции в секундах	Эффект излучения в %	
	листьев приму ш	взвеси хлоропластов
2	**12**	**36**
3	**37**	**45**
4	**23**	**35**

Примечание. Цифры выражают среднее из нескольких опытов.

Отдельные полосы, типичные для свободной карбонильной группы, свободной аминогруппы и свободного

гидроксила, были действительно обнаружены при аналогичных условиях опыта (табл. 11).

ТАБЛИЦА 11

Полосы свободных радикалов в последующем излучении листьев примулы
(через 10 мин после помещения в темноту)

Экспозиция в секундах	Эффект излучения радикалов в %		
	$>C{=}O$	$-N<^{H}_{H}$	-OH
3	**54**	**10**	**11**
4	**12**	**26**	**27**
5	**2**	**24**	**8**

Примечание. Цифры выражают средние данные.

На основании этих результатов была сделана попытка проверить, действительно ли радикалы возникают как вторичное явление, т. е. в результате поглощения молекулами ультрафиолетовых фотонов, энергия которых суммируется за счет энергии видимой части спектра.

К взвеси хлоропластов прибавлялся в небольшой концентрации один из сильных гасителей митогенетического излучения — фурфурол. Прибавление производилось после 30 *мин* яркого освещения хлорофилла или до его освещения. Если возникновение свободных радикалов связано с поглощением энергии ультрафиолетовых фотонов, то спектры радикалов могли быть обнаружены при освещении хлорофилла до прибавления фурфурола, так как только в этом случае могло возникнуть митогенетическое излучение. В этих опытах применялся спектральный анализ селективного рассеяния, которое, вследствие несколько большей интенсивности, можно обнаружить и в присутствии гасителей (табл. 12).

Результаты, таким образом, с достаточной степенью достоверности говорят о том, что радикалы, во всяком случае в статистически преобладающем количестве, возникают в результате поглощения молекулами ультрафиолетового (митогенетического) излучения.

ТАБЛИЦА 12*

Свободные радикалы в спектре излучения хлоропластов после 30 *мин* освещения

Экспозиции в секундах	Эффект излучения различных радикалов в %					
	фурфурол внесен после освещение			Фурфурол внесен до освещения		
	>C=O	-N=H₂	-OH	>C=O	-N=H₂	-OH
2	25	33	16	8	—3	—1
4	19	11	22	5	—5	10
6				—8	0	- 3

• Цифры выражают среанее из нескольких опытов.

Другими словами, возможен следующий более общий вывод: митогенетическое излучение, возникающее за счет суммации энергии видимого света, является тем энергетическим фактором, который, с одной стороны, дает непосредственный старт процессам поликонденсации (синтезу пептидов), с другой стороны, способствует возникновению свободных радикалов. Рекомбинации радикало^ или присоединение их к другим функциональным группам могут в свою очередь давать непосредственную энергию для формирования пептидов (взгляд, который все более широко принимается в литературе) и, кроме того, могут продуцировать новые фотоны митогенетического излучения. Другими словами, является очень вероятным, что освещение вызывает в растениях сопряженные реакции, исходный старт которым дается митогенетическим излучением.

Очевидно, что процессы синтеза, особенно синтеза пептидов и белков, лежат в основе роста, поставляя необходимый пластический материал, поэтому представлялось вероятным, что при длительном воздействии гасителя будет наблюдаться заметное торможение роста молодого проростка.

Опыты проводились на проростках гороха и бобов. Исходное предположение было при этом следующим[1], поступающие в семядоли соединения — продукты первичных синтезов — подвергаются интенсивному ферментативному гидролизу и в виде низкомолекулярных

соединений достигают мест назначения, т. е. закладок стеблей, листьев и т. д., где происходит снова усиленный синтез. Участие фотонов митогенетического излучения мы связываем именно с этими вторичными очагами синтезов. Другими словами, можно было предположить, что общий рост будет главным образом замедлен за счет заторможенного вытяжения междоузлий стеблей, кроме того, вероятна была закладка листьев меньших размеров.



Рис. 16. Проростки бобов в растворе салициловой кислоты, концентрация 10^{-6} (слева) и в воде (справа). Обратить внимание на заторможенный рост междоузлий (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

В слабые (10^{-5}—10^{-6}) растворы гасителей[1] и в воду помещались молодые, по возможности одинаковые, проростки. Наблюдение за ростом производилось в течение 10—12 дней. Мы приводим один пример из большого числа опытов, показывающий ясную разницу в росте опытного и контрольного растений (рис. 16). Особенно интересным и принципиально важным является то, что отставание в росте в растворах гасителей никогда не было связано с изменениями формы листьев или общей конфигурации растений. Проростки в гасителях были подобны контрольным и только уменьшены в размерах. Характер результатов тоже говорит таким образом против токсического действия гасителей.

Сдвиг лактам-лактимного равновесия в лактимную сторону. Такая перестройка, носящая даже частичный характер, очень важна с двух точек зрения: характерная для лактимной формы двойная связь между угле-

[1] Салициловая кислота и фурфурол относятся к сильным гасителям, ацетилсалициловая кислота относится к значительно более слабым гасителям.

родом и азотом R—C=N—R делает эту группировку реакционноспособной, кроме того, между пептидными цепями, находящимися в лактимном состоянии, вероятность возникновения водородных связей меньше, чем у цепей, обладающих обычной лактамной формой пептидных связей. Это последнее определяет и меньшую вероятность возникновения двух и трехмерных решеток, т. е. способствует большей независимости цепей, другими словами их большей мобильности. Биологически такой характер пептидов является очень важным, соответствуя динамическим состояниям субстрата живых систем. Более подробно мы остановимся на этом вопросе в главе о клеточном делении. Спектральным методом при митогенетическом облучении печени живой мыши было показано временное, т. е. обратимое, возникновение полос, характерных для двойной связи между углеродом и азотом R—C=N—R, и ослабление полос, характеризующих лактамную форму пептидной связи R—C=O (Е. А. Терновская, 1959).

Возможность процессов синтетического самовоспроизведения в живых системах

Рассматривая явление аутокатализа как принципиально важное, А. Г. Гурвич ставил вопрос о том, могут ли биологические синтезы совершаться путем аутокатализа.

Мы знаем, что в модельных опытах аутокатализ протекает успешно при соотношении концентраций аутокатализирующего вещества (матрицы) и аминокислоты (донора), за счет которой строится более сложная молекула, приблизительно 1:500 или 1:1000. Очевидно, что такое соотношение явно не соответствует тем, которые существуют в живых системах. Нужно поэтому рассмотреть возможные, благоприятствующие аутокатализу условия, которые реализуются именно в живых системах.

Можно представить, что наиболее существенным может быть значительная степень упорядоченности молекулярного субстрата живых систем, которую мы будем всесторонне рассматривать в дальнейшем изложении. Вполне возможно, например, что аутокатализируемые

вещества входят в состав крупных молекулярных комплексов, т. е. структур различной степени сложности с очень незначительным неупорядоченным тепловым движением, и этим создается принципиальная разница с чисто статистическим распределением матриц и доноров в растворе.

Важную роль играют возбужденные состояния значительной части молекул, особенно в системах с оживленным метаболизмом.

Судя по большому значению вспышки митогенетического излучения в процессе аутокатализа в опытах in vitro, митогенетический режим в живых системах является существенным. Вполне естественно, конечно, приписать возбужденным молекулам матриц большую реакционную способность при их воздействии на молекулы донора.

Фактором, лимитирующим аутокатализ в моделях, являются побочные продукты, формирующиеся и накапливающиеся по ходу этого процесса. В живых системах легко представить себе условия их дальнейшего распада, отсутствующие in vitro.

Один из конкретных случаев, где ферментативный синтез является очень мало вероятным, а осуществление самовоспроизведения веществ является, наоборот, очень вероятным, заключается в следующем. Известно, что содержание аденина в дрожжевых клетках после длительного азотного голодания резко падает. Однако восстановление этого вещества, как показывают данные митогенетического спектрального анализа, наблюдается при пребывании такой дрожжевой культуры в растворе гликокола (0,5%) как при оптимальной для дрожжей температуре 27—28°, так и при охлаждении раствора до 0—1° (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1959). Вряд ли при такой низкой температуре вероятен ферментативный синтез[1]. В табл. 13 в виде примера приведены данные одного опыта.

Отдельные обнаруженные митогенетическим путем явления побуждают несколько расширить наши представления о понятии аутокатализа. Есть все основания предположить, что в некоторых случаях процесс нужно охарактеризовать не как самовоспроизведение по типу

[1] Пребывание дрожжей в охлажденной воде не сопровождается повышенным содержанием аденина.

матрица-субстрат, а как цепной процесс перестройки соответствующих субстратов, старт и тип которой задаются внесенной затравкой.

Именно такого рода процесс происходит, по-видимому, при внесении в организм здорового животного так называемого ракового тушителя.

ТАБЛИЦА 13

Спектр селективного рассеяния голодающих дрожжей в холодной воде и в охлажденном гликоколе

Полосы аденина (Å)	Эффект излучения дрожжевых клеток *(%)*	
	в воде	в гликоколе
2120—60	9	40
2500—60	7	68
2640—60	—3	46
2780—2800	—9	68
2960—3120	—7	65

Нарастание концентрации эндогенного бластомогенного вещества в организме после его однократного введения в виде эмульсии (Е. С. Биллиг, 1959) основывается тоже на этом типе процесса самовоспроизведения.

Подходящим субстратом для этого процесса является дезоксихолевая кислота, для которой очень вероятны процессы окисления, циклизации и так далее. Оба эти вопроса, о которых мы только упомянули, будут подробно рассматриваться в главе о биологии раковой клетки.

Биологическое значение принципа аутокатализа, рассматриваемого как путь матричного синтеза или как путь подобной себе перестройки другой молекулы, заключается в следующем. В основе общей закономерности химической эволюции лежит то, что из разнообразия вариантов соединений лишь один или немногие являются устойчивыми и, размножаясь путем аутокатализа, создают основное русло эволюционирующих процессов.

Принципиально аналогичные взгляды высказывают и другие авторы (В. Голдовский, 1955). Голдовский на основании большого фактического материала, полученного в области биохимии растений, выявляет следующую закономерность.

В каждом растении узкая группа веществ представлена, как правило, не одним химически индивидуальным веществом, а целым рядом очень близких по составу и свойствам веществ с общим, характерным для данной узкой группы веществ, планом строения. Эта закономерность названа им «законом множественности представителей отдельных групп веществ в растительном организме».

ГЛАВА 3. Проблема молекулярного субстрата живых систем

ПОНЯТИЕ НЕРАВНОВЕСНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ УПОРЯДОЧЕННОСТИ

Общие предпосылки, из которых исходил А. Г. Гурвич при построении представлений относительно специфических для живых систем состояний молекулярного субстрата, ясны из формулировок, данных во введении. Представление о структурности, необходимое в применении к молекулярному субстрату, должно облегчить наше понимание координированности и регулируемости молекулярных процессов в рамках вышестоящих уровней — клеточного уровня, уровня целого. Вместе с тем, оно должно отвечать способности субстрата к разнообразным перестройкам. Тому и другому требованию удовлетворяет значительно более широкое представление о пространственных закономерностях молекулярного субстрата, чем это принято обычно. Наряду с равновесными, часто даже стабильными, структурами необходимо допустить существование и чрезвычайно лабильных молекулярных объединений — молекулярных констелляций, неравновесных по своему существу, т. е. поддерживаемых притоком энергии.

«Понятие молекулярной упорядоченности, — говорит А. Г. Гурвич, — означает в нашем смысле всякое пространственное распределение молекул, не вытекающее непосредственно из их химической структуры, или состояний равновесия, т. е. химических связей, ван-дер-Ваальсовых сил, и тому подобное. В силу этого молекулярная упорядоченность такого рода неравновесна»[1].

Очевидно, что неравновесные молекулярные объединения обладают известной степенью свободной энергии,

[1] Из неопубликованных материалов А. Г. Гурвича.

т. е. возбуждены. К этой стороне вопроса мы еще вернемся. Сейчас необходимо указать на то, что применение термина «упорядоченность», акцентируя значение пространственных закономерностей молекулярного субстрата и, вместе с тем, лабильность молекулярных ассоциаций, подчеркивает динамический характер всего понятия.

«Молекулярная упорядоченность, с которой связаны жизненные процессы, конечно, по существу не статического, а динамического порядка. Даже сравнительно устойчивые структуры более или менее текучи, так как непрерывный метаболизм касается и их. Можно поэтому смело утверждать, что в живых системах в молекулярной области понятие структуры нельзя противопоставлять понятию процесса. Единственно правильным было бы говорить о структурированных процессах, протекающих в молекулярных комплексах очень различной степени устойчивости» (А. Г. Гурвич, 1944).

Другими словами, неравновесные молекулярные «констелляции» чисто временны и непрерывно заменяются новыми.

Э. Бауэр очень удачно охарактеризовал такие специфические для живых систем состояния, как состояние «устойчивого неравновесия (Э. Бауэр, 1935). Он связывал его с возбуждением белковых молекул, непрерывно приводящим молекулы в состояние деформаций. Сформулированное выше представление о молекулярной упорядоченности, тоже, конечно, связанное с понятием устойчивой неравновесности, всецело основано на эмпирических данных и доступно экспериментальному анализу. В основе последнего лежит специфическое для живых систем явление так называемого деградационного митогенетического излучения.

Мы уже указали выше, что неравновесность молекулярной системы характеризуется высоким энергетическим уровнем, соответствующим затрате энергии на ее поддержание. Очевидно, что при остановке притока энергии энергетический уровень молекулярной системы понизится, т. е. освободится часть ее энергии. Конкретная задача исследования заключается поэтому в обнаружении в той или иной форме освободившейся энергии, могущей служить индикатором неравновесных состояний.

ДЕГРАДАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОНСТЕЛЛЯЦИИ И ДЕГРАДАЦИОННОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ

Экспериментальным доказательством изложенных выше представлений является появление излучения из живых систем при воздействии на них факторов, действие которых мыслимо лишь как нарушение условий, поддерживающих субстрат системы на высоком потенциале. По характеру воздействия применяемые факторы делятся на две группы.

Охлаждение и легкий наркоз. Если свежий переживающий орган или орган на целом организме или целые небольшие растительные организмы подвергнуть быстрому охлаждению, например погрузить в физиологический раствор или воду при температуре в 2—5°, то возникнет «вспышка» митогенетического излучения, интенсивность которого несколько выше излучения, наблюдающегося при физиологических условиях. Аналогичное явление возникает и при применении легкого наркоза.

В зависимости от объекта и температуры охлаждения излучение длится от нескольких до 10—20 *мин.* Явление деградационного митогенетического излучения универсально. Те системы, которые не излучают при физиологическом состоянии, дают такое же ясно выраженное деградационное излучение, как и физиологически излучающие ткани. В этих последних случаях деградационное излучение дифференцируется от физиологического по изменению характера спектра и несколько большей интенсивности.

На живых объектах легко убедиться, что явления, связанные с деградационным излучением, обратимы. Непосредственным результатом охлаждения и наркоза (во всяком случае это совершенно, очевидно, относительно охлаждения) может быть только обратимое подавление метаболизма. Представление о дальнейшей связи между понижением метаболизма и возникновением излучения гипотетично, но обладает большой степенью вероятности: какая-то статистически более или менее постоянная доля молекулярных комплексов находится на высоком потенциале, поддерживаемом непрерывным притоком энергии, доставляемой метаболизмом. При значительном понижении притока неравновесные комплексы переходят

на более низкий уровень (равновесный), освобождая при этом энергию.

Длительность и, по-видимому, интенсивность деградационного излучения зависят от степени применяемого охлаждения. Вместе с тем, она различна для различных органов. В растительных тканях длительность излучения при охлаждении до 5° порядка 10—15 *мин,* при температуре около 0° она не превышает 1—2 *мин* с резким декрементом интенсивности.

Эффект излучения свежей луковой пленки, положенной на лед и покрытой тонкой пластинкой льда, в течение первой минуты с момента охлаждения составлял 45, 51 и 35%, а между второй и третьей минутами —0, —2, —6% (В. Ф. Еремеев, 1958).

Деградационное излучение большинства животных тканей при температуре 5—7° значительно более длительно, около 20—30 *мин.* Поэтому мало вероятно, что возникновение излучения является следствием первых моментов охлаждения, которое можно рассматривать как холодовое раздражение. Напротив, речь должна идти о реакции субстрата на понижение энергии метаболизма.

Излучение при охлаждении исследовалось как на целом ряде растительных систем (кроме луковой пленки на корешках лука, подсолнечника, бобовых, на дрожжевых культурах), так и на животных объектах в опытах in vivo (куриные зародыши, эпителий роговицы, печень, почки, селезенка, слизистая оболочка желудка — переживающий орган, головной мозг, нервы, мышцы).

Приведем отдельные примеры, указывающие длительность излучения и ее зависимость от уровня охлаждения. Эффект излучения икроножной мышцы лягушки, охлажденной физиологическим раствором или накладыванием льдинки из физиологического раствора, зарегистрированный между 5 и 15-й минутами после охлаждения, выражается в следующих цифрах: 31, 10, 42, 66, 35%. Излучение печени мыши после предварительного охлаждения в течение 25 *мин* до 10°С составляет 45% (среднее из 5 опытов). После охлаждения до 0—1°С эффект излучения в течение первых 5 *мин* составлял 42% (среднее из 5 опытов), в течение следующих 5 *мин* — 9%, а между 10 и 15 *мин* — 3% (Ю. Н. Пономарева, 1945).

Таким образом, вывод о том, что механизм, накапливающий энергию метаболизма, поддерживается самим

процессом накопления и при резком уменьшении притока энергии нарушается, освобождая при этом свой энергетический потенциал, является вполне обоснованным.

Дальнейшие опыты показывают, что речь должна идти именно о неравновесно-упорядоченном состоянии.

Центрифугирование. Во время центрифугирования (с скоростями 3000—3500 оборотов в 1 *мин)* некоторых объектов — молодые проростки бобовых, печень и почка мыши (переживающие органы) — возникает излучение, прекращающееся через несколько минут.

Центрифугирование производится в стаканчике с кварцевым дном. В кожухе центрифуги на уровне, соответствующем положению дна стаканчика во время вращения, находится закрытое кварцевой пластинкой отверстие, против которого устанавливается детектор излучения. Время пробега мимо детектора при каждом вращении порядка 1/6000 сек, т. е. длительность экспозиции за 1 *мин* равняется 5 *сек*.

Механизм действия центрифугирования при средних скоростях вращения можно представить только следующим образом: центробежное смещение сравнительно крупных включений — гранул, коллоидных частиц, — приводит к нарушению каких-то чрезвычайно лабильных молекулярных объединений. Другими словами, вспышка излучения рассматривается именно как следствие нарушения молекулярной упорядоченности.

Пропускание слабого постоянного или переменного тока. На растительных объектах — луковые пленки, корешки подсолнечника и бобов, на животных тканях — печень мыши и кролика (в остром опыте) было показано, что при пропускании тока возникает излучение (Ю. Н. Пономарева, 1945).

Тонкие платиновые электроды накладываются на поверхность испытуемого объекта на расстоянии 12—15 лш друг от друга. Исследовался участок посередине между электродами, что практически исключало последствия, которые могут возникнуть от местных процессов на электродах. Сила тока — 0,02—0,05 *ма* при 4—6 *в*. Применение таких токов в течение 3—5 *мин* не вызывает каких-либо необратимых результатов.

Непосредственными обратимыми изменениями могут являться так же, как и при центрифугировании, только

перемещения в клетках каких-то сравнительно крупных, в данном случае заряженных, частиц. Вторичными последствиями, с которыми может быть связано излучение, является, вероятнее всего, нарушения лабильных молекулярных структур.

Эффект излучения при воздействии слабых токов на различные объекты выражался следующими величинами:

Свежесрезанный корешок лука	
На электродах без тока	2
Во время пропускания тока (5 *мин*)	73
То же самое, следующие 5 *мин*	21
Ток выключен	5
Свежесрезанный корешок боба	
На электродах без тока	6
Во время пропускания тока (5 *мин*)	62
Ток выключен	0
Луковая пленка на электродах	
Без тока	4
Во время пропускания переменного тока (6 *мин*)	53
» » пропускания постоянного тока (6 *мин*)	40
Печень живого кролика	
Электроды наложены без тока	2
Пропускается переменный ток	45

Таким образом, две резко отличающиеся по характеру воздействия группы факторов — охлаждение и наркоз, понижающие уровень метаболизма и центрифугирование и пропускание слабых токов, результат действия которых может быть точнее всего описан как механическое нарушение молекулярных объединений, приводят к одному и тому же последствию — излучению.

Означает ли это, что обе категории действуют различными путями на один и тот же субстрат? Экспериментальное решение этого вопроса заключалось в изучении последовательного воздействия различных факторов на один и тот же объект: обязательным при этом, конечно, была перемена последовательности воздействий.

Результаты были вполне однозначны. Было установлено, что при последовательном, без перерывов, применении в различном порядке различных воздействий только первый из них вызывает деградационное излучение данного объекта:

Излучение корешков боба при пропускании постоянного тока (5 *мин*)	50
Последующее охлаждение тех же корешков .	6
Охлаждение таких же корешков без предварительной электризации	44
Излучение корешков бобов при пропускании переменного тока (5 мин)	55
Последующее охлаждение тех же корешков . .	2
Охлаждение таких же корешков без электризации (10 *мин*)	68
Излучение корешка, находящегося 10 *мин* в воде при t 18° при последующем пропускании тока	70
Излучение корешка при охлаждении (10 *мин*)	60
Последующее центрифугирование	6
Центрифугирование контрольного корешка . .	35
Луковая пленка после пребывания в течение 1 *мин* на льду и наложения постоянного тока	5
Та же пленка после 5 *мин* пребывания в воде при температуре 18° и наложении постоянного тока	100
Печень мыши, находившаяся 1 *мин* в растворе Рингера при 3°С	79
Последующее центрифугирование	2
Такая же печень, подвергающаяся центрифугированию	80
Последующее погружение в раствор Рингера при 3°	2

Мы уже говорили, что исследования деградационного излучения, его интенсивности и спектрального состава проводились на разнообразных растительных и животных объектах, главным образом при применении охлаждения. Значительная часть результатов, указывающая на несомненную связь между функциональным состоянием объекта и спектром излучения, будет изложена дальше. Отметим только, что результаты, полученные на некоторых системах (в основном на мышцах), дают критерий для оценки характера упорядоченности молекулярного субстрата. К этому вопросу мы сейчас перейдем, рассматривая общие вопросы динамики упорядоченности.

ЭНЕРГЕТИКА И ДИНАМИЧНОСТЬ НЕРАВНОВЕСНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ УПОРЯДОЧЕННОСТИ

Говоря о том, что какая-то статистически постоянная часть молекулярных элементов субстрата живых систем находится в состоянии неравновесной упорядоченности,

мы подразумевали происходящую при этом непрерывную смену элементов, входящих в состав неравновесных констелляций.

Другими словами, происходит как бы непрерывный «ремонт» системы, т. е. замена молекул, нарушивших по каким-либо причинам упорядоченное распределение, другими, повысившими в данный момент свой энергетический потенциал. Именно таким образом нужно представлять осуществление того динамического равновесия в утилизации энергии метаболизма молекулярными ансамблями, которое специфично для физиологического состояния систем.

Перед нами встает теперь следующий вопрос. Реальное значение неравновесных молекулярных констелляций, т. е. их достаточный удельный вес среди других структурных элементов, может проявляться только в том случае, если источником их поддержания являются основные процессы метаболизма. Другими словами, средняя потенциальная энергия констелляций должна соответствовать приблизительно энергии окислительных процессов с теплотностью в 30—40 *ккал/моль.*

Таким образом, для возникновения деградационного излучения, энергия квантов которого лежит в области 100—150 *ккал/моль,* необходимо допустить возможность кумуляции энергии в констелляциях и принять, что накопленный энергетический потенциал локализуется в отдельных функциональных группах молекул и отдается в момент нарушения констелляций в виде фотонов. Поэтому очень существенно основное положение, допускающее, что неравновесные констелляции являются системами общих энергетических уровней, обусловливающими циркуляцию энергии и вследствие этого ее кумуляцию.

Очень интересными в этом отношении являются данные В. Ф. Еремеева (1958), показавшего на луковых пленках, что длительность деградационного излучения во время охлаждения зависит в известных пределах от теплового режима, в котором пленка содержалась до охлаждения, и что кумуляция небольших квантов энергии является часто осуществляющимся процессом.

Повышение исходного нагревания пленки от 9—12° до 35—37° увеличивает длительность деградационного излучения от 40—50 *сек* до 3—4 *мин* Можно представить, что связанное с повышением температуры повыше-

ние скорости метаболических процессов делает более вероятным возникновение неравновесных констелляций, энергетический потенциал которых может быть, конечно, различным. Это различие может обусловить большую длительность деградационного излучения во время охлаждения, так как неравновесные молекулярные ансамбли различных энергетических уровней должны нарушаться при различной степени охлаждения.

Кроме того, на большом количестве опытов, проведенных на луковой пленке, было показано, что энергетический потенциал констелляций возникает не только путем непосредственного поглощения больших квантов энергии, выделяющихся при статистически редких рекомбинациях свободных радикалов или атомов, но и путем накопления отдельных меньших порций энергии. О большой вероятности этих последних процессов мы уже говорили. Экспериментальное доказательство основывается на том, что деградационное излучение луковой пленки почти не ослабляется при введении в нее так называемого ракового тушителя. Вопрос о тушителе и подавлении им митогенетического излучения будет подробно изложен в дальнейших главах. Здесь же мы упомянем только о механизме тушения, помогающем понять механизм деградационного излучения.

Тушитель является ингибитором излучения, так как он вмешивается в основные энергетические процессы: обладая ненасыщенными связями, он присоединяет к себе свободные радикалы, препятствуя этим их рекомбинациям, а следовательно, и выделению тех больших квантов энергии, которые необходимы для непосредственного процесса хемилюминесценции. Другими словами, неспособность тушителя подавлять деградационное излучение указывает на то, что энергетический потенциал констелляций формируется за счет различных форм поступления энергии. Энергия накапливается не только за счет рекомбинаций простых свободных радикалов, но и путем суммации небольших квантов, не связанных с радикальным механизмом.

Представление о молекулярных констелляциях как о системах общих энергетических уровней получило дальнейшее развитие в экспериментальных данных (А. А. Гурвич, В. Ф. Еремеев, 1960, 1961). На мышцах, изучаемых в состоянии покоя на живых животных, была

установлена специфическая для этих условий опыта широкополосность спектров деградационного излучения; ширина полос достигает несколько десятков ангстрем.

Широкую полосу естественнее всего рассматривать как сближение узких полос, легко обнаруживаемых при других состояниях мышц и на других объектах, т. е. как показатель такой организации молекулярного субстрата, при которой осуществляется большая постепенность или даже непрерывность переходов энергетических состояний молекул или их объединений. Такую молекулярную систему можно, таким образом, охарактеризовать как систему общих энергетических уровней. Именно в таких энергетических рамках и нужно рассматривать единство констелляции. Речь должна, по-видимому, идти об очень слабых межмолекулярных взаимодействиях, обуславливающих взаимные ориентации молекул, сохраняющиеся и при их совместном продвижении. Причем обязательным условием такого взаимодействия является возбужденное состояние молекул. Молекулы, застигнутые при разрушении (деградации) констелляций в возбужденных состояниях, переходят на более низкий уровень, и этот переход сопровождается излучением. Спектральный состав деградационного излучения при этом будет зависеть от строения и энергетических уровней излучающей молекулы в момент ее освобождения из неравновесной констелляции. Молекулы, входящие в состав констелляции, могут быть деформированы благодаря своему взаимодействию, что может привести к метастабильному состоянию молекул, обуславливающему отсрочку момента высвечивания. Другими словами, деградационное излучение можно рассматривать не как хемилюминесценцию в строгом смысле этого слова, а как фосфоресценцию, следующую через какой-то промежуток времени за химическим возбуждением всей системы констелляции.

Понятие деформации употребляется, помимо прямого смысла — изменения формы молекулы, — и в самом общем смысле слова, включая сдвиги диполь-моментов полярных молекул.

Изменениям пространственных параметров нужно придавать особое значение в тех случаях, когда можно считать вероятным участие в данном процессе значительного количества высокомолекулярных соединений

(высоких пептидов, белковых цепей). Вследствие меньшей подвижности сложных соединений по сравнению с низкомолекулярными элементами преобладающее неравновесное состояние можно представлять в таких случаях именно в виде пространственной деформации сложных молекул, т. е., например, в виде смещений отдельных возбужденных функциональных групп. Включение комплекса в системы констелляций, т. е. мимолетных молекулярных ансамблей, объединенных общим продвижением, менее вероятно.

Таким образом, несколько схематизируя, можно говорить о двух типах неравновесного состояния: более мобильных системах констелляций и менее мобильных деформированных состояниях крупных молекулярных комплексов. Конечно, между этими крайними флангами должны существовать всевозможные переходные ступени и именно в такой возможности различных вариантов нужно видеть те связи и переходы, которые осуществляются в живых системах между сравнительно устойчивыми структурами, неравновесными молекулярными деформациями и неравновесными молекулярными констелляциями.

Вместе с тем, мы хотим еще раз подчеркнуть, что в то время как разрушение стабильных (равновесных) решеток и комплексов является эндотермическим процессом, т. е. требует затраты энергии, деградация констелляций, наоборот, сопровождается выделением свободной энергии. Другими словами, на разрыв сил взаимного притяжения между элементами решетки (ионами или молекулами) затрачивается энергия. В констелляциях же, напротив, затрата энергии нужна для того, чтобы удерживать молекулы (в более общей форме — элементы) в непосредственном соседстве, т. е. при этом энергия работает против тенденции констелляции к распаду.

Очевидно, что накопление энергии в констелляциях или деформированных комплексах может идти только до какого-то уровня или, вернее, что оно должно непрерывно компенсироваться отдачей энергии, которая при физиологическом состоянии большинства изученных систем происходит, по-видимому, преимущественно дробными порциями, не связанными с излучением ультрафиолетовых фотонов.

Действительно, митогенетическое деградационное излучение обнаруживается, как мы знаем, в большинстве случаев при массовом нарушении констелляций, вызываемом, например, охлаждением, т. е. при повышении вероятности переходов значительного количества молекул с высоких энергетических уровней на более низкие. Но у таких выраженно реактивных, способных к многообразию состояний систем, как нервная и мышечная, динамичность неравновесного молекулярного субстрата проявляется еще ярче, так как в основе спонтанного физиологического излучения этих систем лежит механизм деградации. Другими словами, спонтанно, т. е. без внешних воздействий, происходят более или менее синхронные, захватывающие, очевидно, значительную часть неравновесных констелляций нарушения молекулярной упорядоченности, сменяющиеся ее восстановлениями.

НЕРАВНОВЕСНАЯ МОЛЕКУЛЯРНАЯ УПОРЯДОЧЕННОСТЬ КАК ОСНОВА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ ПРОТОПЛАЗМЫ

Спектры деградационного излучения при различных физиологических состояниях систем

Рассмотрим те разнообразные спектральные данные, которые показывают на однозначную зависимость эволюции деградационных спектров от развития того или иного, наблюдаемого и другими способами процесса (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1945; Ю. Н. Пономарева, 1945).

Наблюдения производились частично на экстирпированном органе путем изучения его излучения при охлаждении, а на некоторых легко доступных тканях и органах и прижизненно, особенно при изучении излучения, возникающего при наложении переменного тока ничтожной интенсивности.

В повторных опытах при возможно полном соблюдении одних и тех же условий воспроизводимость спектров удовлетворительна, но выражена далеко не так ясно, как в спектрах различных химических систем или в спектрах излучения органов и тканей при нормальных физиологических условиях. Это уже само по себе указывает на большую динамичность неравновесных состояний субстрата.

Трудность получения детального деградационного спектра при нормальном состоянии исследуемого органа, т. е. в сущности говоря при отсутствии внешних известных (адекватных или не адекватных) раздражителей, конечно, велика, так как это нисколько не гарантирует тождества всех биологических условий.

Поэтому в ряде случаев исследование ограничивалось установлением частичных спектров, т. е. изучением определенного набора полос в широком спектральном диапазоне, которые благодаря специальному техническому приспособлению могли быть получены одновременно.

При применении холода животное (большей частью мышь) убивали путем декапитации, и быстро отпрепарированный, еще теплый, орган погружали в кварцевую камеру с охлажденным физиологическим раствором. Действие слабых токов изучалось на печени целого животного (кролик) путем наложения тонких, гибких, слегка пружинящих пластиновых электродов на небольшой обнаженный участок органа.

Была исследована также слизистая оболочка пилорической части желудка мыши, отпрепарированная немедленно после декапитации и предварительно быстро промытая в теплом физиологическом растворе. При экспозиции она натягивалась несколькими иглами на пробку. Получить более или менее стандартное содержание пищи в желудке, несмотря на возможную стандартизацию корма и время кормления, было трудно. В опытах применялся различный пищевой режим: хлеб, молоко, сено в различных количествах. Кроме того, исследования проводились натощак. Поэтому спектральные результаты рассматривались нами с чисто качественной точки зрения и интерес представлял главным образом тот аспект данных, который показывал на большое разнообразие спектрального состава излучения, не уступающего разнообразию физиологических свойств желудочного сока (рис. 17).

Почка мыши оказалась гораздо более благоприятным объектом. Правда, исходный стандарт, так называемую «норму», не удалось получить с полной воспроизводимостью, однако в 5 опытах из 8 получились идентичные результаты (табл. 14). Мыши находились на

обычном пищевом режиме, кормление производилось за определенное время до опыта.

Связь между функциональным состоянием почки и спектральным составом деградационного излучения изучалась путем введения под кожу одного из следующих трех веществ: метиленовой синьки, нейтральной коасной и мочевины. Животных убивали через различные промежутки времени и отпрепарированные почки немедленно погружали в охлажденный физиологический раствор. Выяснилось, что одинаковое после введения красок время еще не гарантирует идентичности гистологической картины почечного эпителия.

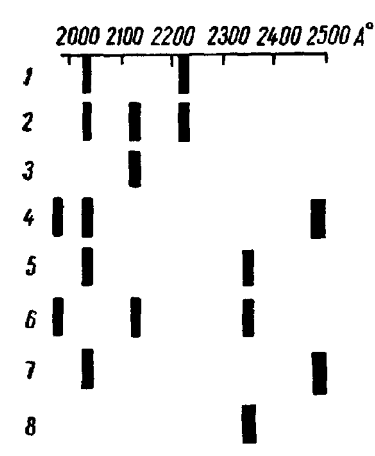


Рис. 17. Результаты исследования шести спектральных полос слизистой оболочки желудка мыши при различном пищевом режиме (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

Подробное объяснение см в тексте.

Индивидуальные различия сказываются приблизительно в течение часа после инъекции. В полном соответствии с этим находится и пестрота спектрального состава излучения в эти промежутки времени. Тем не менее удалось подметить следующие закономерности, представляющие принципиальный интерес. Уже через 10 *мин* после введения веществ спектральный состав

ТАБЛИЦА 14

Степень воспроизводимости деградационного спектра почки при нормальных условиях

Длины волн (А)	Эффект излучения в различных опытах (в %)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1945—1960	—4	5	2	—2	—18	—4	U	—5
2020—2035	27	8	40	50	54	55	31	26
2205—2230	61	34	9	—4	—2	—14	27	- 6
2325—2350	0	14	—4	4	—2*	0	2	—2
2465-2500	22	25	—4	._2	—2	9	6	—2

деградационного излучения резко отличается от нормы и, по-видимому, уже специфичен для данного вещества. При этом состав спектра закономерно эволюционирует по времени: спектры, снятые через 40—45 *мин* после введения веществ, резко отличаются от спектров, снятых через 10 *мин*.

Не менее замечательно, что при максимальном накоплении в клетках во всяком случае некоторых веществ деградационное излучение исчезает и появляется снова лишь через 2,5 *ч*, по-видимому, ко времени возникновения волны выделения. В наблюдениях на почке это относится к мочевине, аналогичное явление наблюдается в печени при накоплении гликогена. По нашим данным, деградационное излучение почки мыши при выделении мочевины выражается в следующих цифрах:

	%
Через 30 *мин* после инъекции	28
» 40 » » »	25
» 45 » » »	55
» 75 » » »	−6
» 90 » » »	0
» 120 » » »	−5
» 150 » » »	23
» 150 » » »	37

Функциональные изменения деградационных спектров печени изучены наиболее подробно (Ю. Н. Пономарева, 1945). Они были получены на живом животном при раздражении печени очень слабыми переменными токами, порядка 5 *мка* при напряжении 4 *в*.

Спектральный состав деградационного излучения печени 11 кроликов, исследуемых при возможно одинаковых условиях, оказался достаточно постоянным. Вместе с тем введение под кожу сравнительно небольших количеств глюкозы до 0,5 *г* или ничтожных количеств кокаина около 10^{-5} *г* вызывает уже через 5 *мин* резкие сдвиги спектра. Если допустить, что через 5 *мин* резорбируется не более половины введенного количества и, что приблизительно 0.5 или 0.25 этого количества накапливается в печени, и исходить из среднего объема печени и числа печеночных клеток, выводимого из этого объема, то при этом на долю каждой клетки придется в среднем несколько десятков молекул кокаина. Другими словами, наблюдается поразительный факт: чрезвычайная

чувствительность клеток на введение ничтожных количеств вещества, наряду с значительной стабильностью «нормальной» картины. Это противоречие можно объяснить, если принять следующее положение: деградационные спектры, а следовательно, и неравновесные констелляции слабо или вовсе не реагируют на медленные постепенные колебания метаболизма, несомненно, имеющие место при нормальном пищевом режиме. Но каждое быстрое изменение концентрации какого-либо вещества, которое независимо от абсолютного уровня концентрации, несомненно, возникает при подкожном введении, вызывает резкие отклонения в динамическом равновесии молекулярного субстрата.

Основные результаты, полученные на печени в опытах in vivo, следующие: 1) спектральный состав деградационного изучения печени у кролика и у мыши различен; 2) различны спектры, получаемые при охлаждении и наложении переменного тока у одного и того же животного; 3) при исследовании излучения печени живого кролика последовательно через каждые 5 *мин* после введения глюкозы установлено, что спектральный состав меняется и через 2 *ч* приближается к спектру, наблюдающемуся в первые 5 *мин;* 4) перегрузка организма глюкозой (четырехкратное введение 0,5 *г* на протяжении 2—3 *ч)* приводит к временному полному угнетению деградационного излучения; 5) спектр деградационного излучения типичен для данного вещества, т. е. различен при введении глюкозы и кокаина; 6) при одновременном введении обоих веществ спектр излучения представляет собой, по-видимому, сумму спектров, получаемых при введении каждого вещества в отдельности (табл. 15).

Приведенные примеры показывают с большой убедительностью, что в рассматриваемых метаболических процессах неравновесноупорядоченный молекулярный субстрат играет очень большую роль, вернее, что этапы метаболизма совершаются через посредство неравновесных молекулярных констелляций. Другими словами, необходимо, очевидно, принять, что введенные частично физиологические, частично посторонние вещества тем или иным образом влияют на неравновесные констелляции, т. е. вступают или непосредственно в состав неравновесных констелляций или образуют с молекулами констелляций связи различного характера.

ТАБЛИЦА 15

Излучение печени живого кролика при подкожном введении глюкозы и наложении переменного тока

Длина волны в А	Эффект излучения в % через				
	0	3	5	10	15 *мин*
1945—1960	3	1	48	60	54
2020—2035	34	45	7	4	68
2110—2130	33	48	50	3	1
2205—2230	1	0	50	61	72
2325—2350	30	**51**	**1**	68	1
2465—2500	4	**1**	**1**	56	57

Примечание. Приводятся средние результаты из 5 опытов.

В некоторых случаях речь может идти об истинных связях, в других — о более слабых типа ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Посторонние молекулы, присоединяющиеся к основным молекулам неравновесных констелляций, могут образовывать боковые цепи и этот процесс может изменить конфигурации констелляций и характер деформаций входящих в их состав молекул. Непрерывные изменения характера спектров при прогрессивном накоплении системой одного и того же вещества говорят в пользу этого предположения.

* *
*

Вся совокупность изложенных в этой главе данных и представлений выдвигает на первый план следующую принципиальную проблему, сущность которой заключается в следующем: согласно самому определению неравновесных констелляций они не могут возникнуть спонтанно, т. е. в результате взаимодействия между входящими в их состав молекулами. Действительно, молекулы могли бы установиться в определенные упорядоченные структуры только путем взаимного притяжения, хотя бы ван-дер-ваальсовыми силами. Но в этом случае молекулярные ансамбли не были бы неравновесными и на их создание энергия не затрачивалась бы, а, наоборот, освобождалась бы при этом.

Если же приложение энергии приводит к пространственно упорядоченному распределению не связанных

друг с другом взаимными связями молекул, то невозможно обойтись без представления о внешнем по отношению к констелляциям организующем факторе. Он, если можно так выразиться, «прилагает» энергию, освобождающуюся при элементарных химических актах, к окружающим молекулам (их определенным группам). При этом приложение энергии приводит к актам векторного характера, так как молекулам навязывается определенное пространственное распределение, другими словами, химическая энергия переходит в энергию положения молекул.

Это означает, в самой общей форме, что область возникновения неравновесных констелляций должна рассматриваться как сфера действия векторного поля.

ПРЕДПОСЫЛКИ ТЕОРИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Необходимость введения в биологию векторного принципа, характеризующего в какой-то степени все жизненные явления, была ясно сформулирована А. Г. Гурвичем в так называемой второй более общей концепции биологического поля — теории клеточных полей в 1944 г. Последовательное развитие и уточнение этой теории началось между 1910—1920 гг., когда А. Г. Гурвич, анализируя зависимость элементов от целого во время формообразования, пришел к необходимости создания пространственно-временной конструкции, которая не должна упрощать сложную и специфическую феноменологию формообразовательных процессов, но должна помочь пониманию их последовательного развития при допущении сравнительно простых исходных условий.

К каждой фазе развития зародыша или, вернее, к каждому данному моменту развития применимо понятие целого, «объемлющего», объединяющего наличные для данного этапа элементы — «объемлемые» части. Такое эволюционирующее целое может быть охарактеризовано рядом процессов, явлений и параметров, значительная часть которых, конечно, тоже эволюционирует, т. е. они являются переменными. Однако наряду с этим допускалось существование и постоянного члена — инвариантного принципа действия целого на элементы. Постепенная выработка закономерного строения формы при раз-

витии зародыша, т. е. пространственные перемещения и положения клеток (элементов) в различные фазы формообразования, являются функцией от этой инварианты, связанной как-то с основной осью симметрии.

Для иллюстрации этого положения А. Г. Гурвич приводит простую механическую аналогию — путь летящего снаряда. Конфигурация пути полета является функцией и от исходных условий, которые могут быть переменными, такими, как наклон орудия, давление газа в стволе и т. д., и от инвариантного фактора — гравитационной силы. При этом единственным непрерывным переменным является время.

Если путь, пролагаемый клеткой в развивающемся зародыше, зависит от инвариантного действия целого, то, очевидно, положение клетки в каждый данный момент может быть описано в системе координат целого. Это представление является в таком случае самой общей формулировкой принципа векторного поля целого.,

Преемственность между знаменитым положением Дриша «проспективная судьба элемента определяется его положением в целом» и приведенными выше понятиями несомненна, но там, где Дриш кончал, А. Г. Гурвич видел лишь начало анализа. Целое необходимо рассматривать как работающий принцип. Для этого сформулированные выше представления нужно было применить к реальным случаям—совокупности явлений, охватывающих множество клеток, и посмотреть, сохранится ли при этом возможность аналитического подхода в отличие от чисто экспериментального, т. е. можно ли обнаружить действие инварианты целого?

А. Г. Гурвич вел исследования различными путями, анализируя и распределение митозов на различных стадиях эмбрионального развития и клеточную кинематику, т. е. передвижения клеток при различных формообразовательных процессах, например при формировании эпителиальных пластов развивающихся мозговых пузырей. При этом исходной во всех случаях являлась следующая предпосылка: эмбриональный организм или ограниченный зачаток органа должны рассматриваться как «коллективные предметы» (терминология Фехнера). Это значит, что к совокупности элементов нужно применять понятие целого. Вместе с тем, элементы должны обладать высокой степенью автономности и быть на

ранних стадиях развития почти или совсем эквипотенциальными.

Разнообразные данные механики развития показали, что два последних критерия вполне применимы.

Конкретный анализ проводился А. Г. Гурвичем при помощи статистических методов, почти не применяющихся в каузальных направлениях биологических исследований.

Формообразование мозговых пузырей оказалось одним из тех процессов, анализ которого привел к ряду однозначных выводов, хотя феноменологически он очень сложен, представляя комбинацию различных пространственных перемещений (А. Г. Гурвич, 1914, 1930). Тщательный гистологический анализ показал, что каждая фаза перестройки связана с координацией различных клеточных процессов: размножения, миграции клетки из зоны размножения во внешний слой и специфического наклона длинных осей клеточных ядер относительно поверхности данного участка пласта.

Такая координированность разнородных клеточных процессов делала уже сама по себе чрезвычайно мало вероятной любую попытку рассмотрения формообразования пласта как результата простого суммирования детерминированных с самого начала, т. е. обособленных клеточных жизненных циклов. Особенно ясно и длительно проявляется взаимная зависимость поведения элементов и целого на наклонах осей клеточных ядер. Применение к этому параметру статистической обработки позволило сделать вполне определенный вывод: преимущественная скошенность осей в каждый данный момент такова, что она позволяет предсказать последующую форму данного участка пласта. Изгибаясь, он временно образует относительно осей нормальную поверхность, дальнейшему скашиванию осей следует дальнейшее соответствие изгибания поверхности и т. д.

Таким образом, эти данные ясно показывали на координацию клеточных процессов и непрерывную и, вместе с тем, однозначную (простую) связь клеточного уровня с уровнем целого.

С этой же точки зрения А. Г. Гурвичем был статистически обработан очень большой материал по митозам, результаты которого привели к дальнейшим принципиальным выводам (1911, 1930). Изучались интенсивность

(частота) делений, распределение митозов и ориентировка митотических осей в животных и растительных меристемах. При этом выбирались объекты с выраженной билатеральной или медиальной симметрией, т. е. такие, у которых система отсчета и разделение на зоны могли быть просто связаны с медиальной плоскостью.

Чрезвычайно удобными в этом отношении являлись гаструла морского ежа, роговица и линза куриного зародыша на стадии двух-, трехдневного развития и прямые корешки лука.

Вопрос ставился следующим образом: какова степень связанности формы целого с различными параметрами «поведения» митозов?

Очевидно, что частота делений справа и слева от медиальной плоскости должна была быть очень близка, но вопрос о симметричности распределения митозов, т. е. о степени сохранения строгой топографической синхронности, которая, например, специфична для первых фаз дробления яиц морского ежа, нуждался в специальном выяснении. Неоднородные, на первый взгляд, результаты были очень содержательны.

Статистические подсчеты показали, что число симметричных митозов в гаструле в 10 раз больше, чем можно ожидать на основании простых наблюдений. Предшествующая строгая синхронность, таким образом, убывала, но еще не совсем исчезала, т. е. расположение одновременных митозов относительно осей целого не было случайным.

Вместе с тем, в линзе, в роговице и в корешках лука распределение одновременных митозов относительно медиальной плоскости являлось как бы случайным, укладываясь в нормальную гауссову кривую. Дальнейший анализ этих явлений, дополняющих чисто кинематическую картину, наблюдаемую при формообразовании мозговых пузырей, имел глубокий биологический смысл.

А. Г. Гурвич подчеркивал, что необходимо сразу же ясно представлять, что мы называем случайным. Очевидно, имеет смысл говорить не о случайности митоза вообще, а о том, что процесс митоза в данной клетке случаен относительно положения этой клетки в координатах целого. Но это может только означать, что другие факторы, от которых должно зависеть возникновение

митоза, не связаны с положением клетки относительно медиальной плоскости системы.

Другими словами, может быть такое сочетание условий, обусловливающих возникновение данного процесса, при котором хотя бы один из группы факторов сравнительно независим от других. Неслучайное распределение каких-нибудь одновременных событий (митозов) относительно оси целого показывает, наоборот, что вся группа факторов объединена какими-то более жесткими связями. Характеризуя эти взаимоотношения между целым и элементами (данными процессами) как «детерминацию» элементов со стороны целого, А. Г. Гурвич определяет первую категорию отношений как их «нормировку», придавая ей принципиальное значение. Правильное, т. е. закономерное, формообразование (конфигурации хрусталика, роговицы, корешка) возможно при отсутствии жестких связей между элементарными процессами, создающими данную форму. Другими словами, целое проявляет себя относительно элементарных процессов не как детерминирующий, а как нормирующий фактор.

Очевидно, что понятие нормировки, близкое к общему понятию регуляции, но более строгое, принципиально шире детерминации, охватывая все те градации взаимодействия, где можно и нужно говорить о различных степенях свободы.

Возвращаясь к этой проблеме на протяжении ряда лет, обобщая, помимо собственных данных, данные экспериментальной эмбриологии и такой быстро развивающейся области, как иммунология, А. Г. Гурвич дает краткую формулировку этой проблемы[1].

«Само собой разумеется и поэтому банально, что все взаимоотношения процессов как в пределах одного уровня, так и различных уровней обладают некоторой степенью свобод. Но существенны и не банальны факты, указывающие, во-первых, на очень различные степени строгости нормировки идентичных событий в пределах одного и того же уровня и, во-вторых, на значительное убывание степени нормировки от более высоких к более низким уровням. Особенно резок этот скачок и имеет особо важное принципиальное значение при переходе от

---

[1] Из неопубликованных материалов А. Г. Гурвича.

макроуровней (т. е. событий, захватывающих большие клеточные комплексы) к клеточному уровню[1].

Несомненная консервативность живых систем, выражающаяся в эквифинальности результатов, есть, таким образом, выражение закономерностей, выяснение которых является основной, еще мало исследованной задачей будущего анализа. Но некоторые положения мы можем и даже обязаны сформулировать теперь.

Принцип работы целого правильнее всего рассматривать как выработку методов обеспечения упорядоченности и устойчивости системы при возможно малом ограничении степеней свобод входящих в нее элементов»[2]. Именно эту формулировку А. Г. Гурвич рассматривал как наиболее точное определение содержания понятия нормировки.

Развивая ее, он говорит, что «так как степени свобод проявляются с наибольшей яркостью в пространственных взаимоотношениях клеточного и непосредственно выше стоящего макроуровня, то мы можем сказать, что во всяком случае нормируются чисто пространственные векторные параметры поведения клеток».

Вкладывая, таким образом, в широкую и неясную по определению проблему регуляции вполне определенное содержание — нормировку пространственных параметров элементов со стороны целого при постепенной выработке окончательной формы, А Г. Гурвич понимал понятие формы очень широко. Исходя из эмбриогенеза — специфической науки о формообразовании, — он выходил за его пределы, перенося понятие формы в области величин молекулярного порядка, связывая этим функциональные понятия, т. е. обратимые состояния субстрата с пространственными характеристиками.

Таким образом, представления, формулирующиеся первоначально для надклеточного уровня целого и для клеточного уровня, были принципиально расширены на молекулярные явления. Это расширение, однако, отнюдь не означало перехода к простому расчленению явлений до молекулярных процессов. Напротив, вводя молекулярные представления, А. Г. Гурвич подчеркивает, «что

---

[1] Как уже излагалось выше на примере митозов и передвижений клеток.

[2] Не совсем дословные цитаты передают, однако, точно основной смысл.

единственной целью расчленения является последующий рациональный ресинтез...». «Представления, возникшие при анализе явлений на низшем уровне, должны изменить, упростить (и этим приблизить к нашему пониманию) представления, создавшиеся из наблюдений на вышестоящем».

Другими словами, в основе рационального ресинтеза должно лежать конструктивное представление о сопряженной зависимости явлений, возникающих и формирующихся на различных уровнях.

Эта формулировка, являясь логическим завершением всего сказанного, включая и те представления, которые лежат в основе анализа неравновесной упорядоченности молекулярного субстрата, подводит нас непосредственно к теории поля[1].

ОБЩИЕ ОСНОВЫ ТЕОРИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Клеточному полю приписывается не детерминирующее, а нормирующее значение молекулярных процессов, т. е. состояние молекулярного субстрата может быть выражено, с этой точки зрения, только в рамках статистических закономерностей. Другими словами, поведение молекул в данный момент определяется рядом факторов — их энергетическими запасами, близостью и ориентацией относительно соседних молекул и их пространственными положениями относительно координат клетки или системы клеток.

Поле как нормирующий фактор способствует упорядоченности молекулярного субстрата, о которой говорилось выше, т. е. противодействует в какой-то степени тепловому движению молекул. Естественно поэтому относить понятие упорядоченности к менее подвижным большим молекулам — нуклеопротеидам, белкам, пептидам. Понятие поля, употребляемое в физике, связано с принципом инвариантности. То же в полной мере относится к биологическому полю: инвариантен сам принцип векторизации молекулярных процессов субстрата. «По своей логической структуре, — говорит А. Г. Гурвич, — понятие

---

[1] Полный обзор концепции биологического поля дан в статье Л. В. Белоусова в сб.. «Физические и химические основы жизненных явлений», М., 1963.

полевого фактора аналогично понятию кванта энергии, который независимо от входящей в него переменной величины инвариантен по принципу своего действия».

С точки зрения сопряженной зависимости между различными уровнями рациональнее всего связать понятие «источника поля» с клеточным уровнем, промежуточным между уровнем целого и молекулярным, т. е. с клеткой или ее ядром. Очевидно, что при этом сфера действия поля не должна ограничиваться пределами клеточного тела, т. е. векторизация молекулярного субстрата должна осуществляться и вне клеток, конечно, с известным градиентом падения. Это допущение, естественное с точки зрения понятия поля вообще, является очень существенным, так как оно конкретизирует представление о сопряженной зависимости всех трех уровней. Мы разовьем его поэтому несколько подробнее и начнем с данного пока в общей форме определения источника поля.

Единичным или элементарным источником поля должен быть такой акт метаболизма (процесс молекулярного уровня), который совершается с достаточной частотой в клеточном теле или ядре, сохраняет преемственность относительно клеточных поколений и является вместе с тем достаточно специфическим, т. е. должен быть отнесен к сложным, специфическим для живых систем, соединениям.

Соответственно этим предпосылкам было сделано предположение, что последняя фаза синтеза частицы хроматина (т. е. акт образования дезоксирибонуклеопротеида) характеризуется, наряду с химическими параметрами, и векторным воздействием на окружающие возбужденные молекулы субстрата. Следовательно, источники поля локализованы в ядре. Причем, и это очень существенно, так как подчеркивает биологическую специфику концепции, поле ядра преемственно, т. е. каждый акт синтеза становится кратковременным источником поля только в том случае, если он возникает в сфере векторного действия предшествующего акта, т. е. другого элементарного источника поля, возникшего несколько раньше.

Образно говоря, в хромосоме как бы непрерывно вспыхивают отдельные источники поля. Общее поле хромосомы является результатом геометрического сложения таких отдельных элементарных полей. В характеристику элементарного поля вкладывается принципиально

важное понятие относительно связи поля с видовой специфичностью. Вводится представление о том, что векторное воздействие анизотропно, т. е. что по различным направлениям пространства величина векторов неодинакова, но для данного вида соотношение их величин постоянно.

Наиболее простой случай такой анизотропии в трех направлениях пространства может быть выражен, например, уплощенным эллипсоидом. Очевидно, что вариации величин векторов даже при таком простом допущении могут быть очень разнообразны.

Изложенные до сих пор положения носят несколько абстрактный характер, но эти точные формулировки являются той основой, которая позволяет переход к реальным биологическим построениям.

Очевидно, что с этой точки зрения ядро, а в некоторых случаях при наличии цитохроматина и тело клетки нужно рассматривать как систему, вмещающую очень большое число элементарных источников полей. Действительно, динамика метаболизма, т. е. непрерывность интенсивно идущих обменных процессов, включающих, конечно, и процессы синтеза различной степени сложности, является очевидным фактом, вытекающим хотя бы из результатов, полученных изотопным методом. Это приводит к очень важному выводу. Действие совокупности элементарных полей подчиняется вследствие векторного характера явлений геометрическому сложению. Возникающий результирующий вектор характеризует уже ядерное или клеточное поле, которое, не ограничиваясь пределами клетки, проявляется с известным градиентом падения за ее пределами. Геометрическое сложение клеточных полей дает так называемое актуальное поле, характерное для совокупности клеток. Оно начинает себя проявлять, начиная с ранних этапов развития. Очевидно, что в отличие от элементарного поля, являющегося инвариантом, клеточное поле, а тем более актуальное поле совокупности клеток варьирует по своей геометрии и по своей интенсивности. Последняя характеристика является очень важной, так как с ней связана сопряженность явлений различных уровней.

Действительно, ведь во время прогрессирующих процессов формообразования, связанных с перемещениями

клеток, их делениями, изменениями их формы, общая структура актуального поля непрерывно меняется. Эти изменения сопровождаются изменением «архитектуры» молекулярного субстрата, т. е. перестройки неравновесной молекулярной упорядоченности, что в свою очередь должно отражаться на характере метаболизма (частоте возникновения элементарных актов, ведущих к процессам синтеза, степени распространения цепных процессов), т. е. на частоте и распределении элементарных источников полей. Речь, таким образом, действительно идет о сопряженной зависимости явлений различнных уровней.

Мы увидим сейчас, как, исходя из этого, был решен вопрос о направлении продвижения молекул под действием векторов поля, т. е. выяснена альтернатива об отталкивающем или притягивающем действии поля. Очевидно, что направленное массовое продвижение возбужденных молекул под действием векторов поля должно привести к соответствующему изменению формы клетки и в случае свободного расположения клеток к их перемещениям. Критерием для решения вышепоставленного вопроса являлось поэтому изучение клеточных передвижений и взаимных расстояний клеток на тех стадиях эмбриогенеза, где клеточная кинематика выражена еще очень ясно. Тщательный анализ пространственных параметров мезенхимных скоплений, показавший сохранение в среднем постоянных межклеточных расстояний, и изучение расположения скоплений относительно мощных эпителиальных пластов (сильных актуальных полей) показали, что наблюдаемые морфологические картины можно рассматривать только как последствия взаимного отталкивания клеток. Это означает, что вектор поля оказывает на окружающие молекулы отталкивающее действие[1].

При этом необходимо допустить, что молекулы, не возбужденные в данный момент, продвигаются в зоны, близкие к ядру. Как уже подчеркивалось выше, в связи с динамичностью понятия неравновесной молекулярной

---

[1] При этом нужно помнить, что поле является нормирующей слагаемой и поэтому в условиях переживания, где часто преобладают чисто физико-химические взаимодействия, может произойти и сближение клеток. Такие явления не противоречат полевой концепции.

упорядоченности речь должна идти именно о непрерывных процессах передвижения, а не о стационарных состояниях.

Нет оснований рассматривать биологическое поле как силовое в принятом смысле слова, т. е. считать, что работа, затрачиваемая на продвижения молекул, совершается за счет энергии тех процессов, которые связаны с последними фазами синтеза ядерных нуклеопротеидов.

На основании общих соображений и экспериментальных данных, характеризующих неравновесную молекулярную упорядоченность цитоплазмы по данным деградационного излучения, гораздо правдоподобнее считать, что в основном работа, затрачиваемая на продвижения, ориентации и деформации молекул, совершается за счет энергии возбуждения самих молекул. Другими словами, часть энергии возбуждения молекул, находящихся на повышенном относительно среднего уровня, переходит в сфере действия поля в кинетическую, причем направление сдвигов и продвижений определяются векторами поля.

Относительно деформаций больших молекулярных комплексов, происходящих в поле, делается аналогичное предположение: работа, идущая на деформации, совершается за счет энергии возбуждения самих молекул.

Изложенные представления еще яснее подчеркивают динамический характер общей концепции и необходимость статистического подхода для ее правильного понимания. Связывая вспышки элементарных полей с определенными актами синтеза, мы говорили о кратковременности их воздействий. Эффективность действия векторов поля относительно каждой отдельной молекулы также ограничена кратковременностью ее состояния возбуждения, т. е. мимолетна, но относительно статистического множества молекул создается полная преемственность по времени, т. е. непрерывность работы полевого фактора.

АНАЛИЗ ОБРАТИМЫХ ПРОЦЕССОВ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ КОНЦЕПЦИИ ПОЛЯ

Если в эмбриогенезе вся аргументация основана на эмпирических подтверждениях плодотворности полевых представлений, т. е. на том, что специфические конфигурации развивающегося зачатка могут быть предска-

заны, исходя из теории поля, то в проблемах, связанных с анализом обратимых процессов, критерий применимости поля и анализ явлений с этой точки зрения сводятся к доказательству наличия и выяснению свойств неравновесных молекулярных констелляций, существование которых выводится из наличия деградационного излучения.

Действительно, «поддержание и восстановление констелляций возможно лишь при наличии фактора, стоящего вне самой констелляции, т. е. относящегося к более высокому уровню, и так как речь идет о пространственных закономерностях, то наличие и действие поля следует из самого факта деградационного излучения как необходимость и вместе с тем как определение» (А. Г. Гурвич, 1944). Мы видим, как тесно связана эта глава проблемы митогенеза с концепцией поля.

Выделив еще раз основные положения физиологической теории протоплазмы, приведя некоторые формулировки А. Г. Гурвича, еще яснее подчеркивающие общие принципы подхода к анализу жизненных явлений, сопоставим их, тоже в общей форме, с господствующими в современной биологии представлениями. Это сопоставление является, с нашей точки зрения, необходимым, так как различия во взглядах относятся именно к принципиальным сторонам вопросов. Вместе с тем, некоторые встречающиеся в литературе высказывания указывают на начинающиеся поиски других подходов, близких к построениям излагаемым в этой монографии.

В живых системах осуществляется непрерывная сопряженная зависимость между различными уровнями. Целое (актуальное поле) нормирует пространственные параметры процессов на клеточном и молекулярном уровнях и в свою очередь зависит от частоты возникновений и распределения элементарных полей (молекулярных актов) и клеточных полей, представляя собой их геометрический синтез.

Это предъявляет к исследованию молекулярных процессов на живом вполне определенное требование. Они должны изучаться во взаимосвязанной динамике, и в анализе их специфики нужно исходить из стерических закономерностей, которые в некоторых случаях могут быть с достаточной степенью наглядности связаны с координатами объемлющей системы, в других случаях такая связь должна допускаться. «Анализ жизненных

проявлений есть анализ процессов, но не вовлекаемых в эти процессы частиц независимо от процессов, — говорил А. Г. Гурвич. — Понятие «исходные предпосылки» процесса остается пока совершенно неопределенным и туманным и, строго говоря, вопрос в таком виде не ставится в биологии, основной интерес которой, даже при исследовании процессов, сосредоточен обычно на описании моментальных состояний, но не на самом акте перехода из одного состояния в следующее».

И дальше: «Сама мысль о том, что течение какого-либо процесса А—Б —> АБ зависит не только от свойств А и Б, от их энергетических уровней, от влияния окружающих молекул, температуры и так далее, но, и при этом существенным образом, от топографии процессов в клетке, совершенно не укладывается в рамки классических представлений, исходящих исключительно из строго установленных закономерностей химического взаимодействия молекул» [1].

Непосредственное действие поля ограничивается установлением и поддержанием неравновесных молекулярных констелляций, т. е. координированным передвижением возбужденных молекул и деформированием неравновесных состояний больших молекулярных комплексов. К этому присоединяется второе независимое предположение, «что пребывание молекул в составе неравновесных констелляций создает специфические условия для химических процессов, наблюдаемых исключительно в живых системах» (А. Г. Гурвич, 1944).

Остановимся на этом подробнее. Во-первых, непосредственная близость молекул создает системы общих энергетических уровней. Квант энергии, поглощенный одной из молекул, может со значительной степенью вероятности передаться следующим молекулам констелляций, т. е. как бы циркулировать в ее пределах. Этим должно значительно повышаться использование одного или нескольких квантов в разнообразных, возможных между данными молекулами, реакциях. Во-вторых, сама сущность понятия неравновесной упорядоченности молекул и их неравновесных деформаций связана с принципиально безграничным разнообразием топографических взаимоотношений соседних молекул и их распределения в про-

[1] Из неопубликованных материалов А. Г. Гурвича.

странстве. Вместе с тем эти параметры молекулярного субстрата отражают разнообразие состояний актуальных полей и, что очень важно, их специфичность для данного состояния организма. При этом легко представить, что в этих условиях могут возникнуть динамические пространственные закономерности, благоприятствующие процессам, менее вероятным с чисто химической точки зрения, или, наоборот, тормозящие возможные сами по себе реакции.

Анализируя этот вопрос, А. Г. Гурвич говорил: «Конфигурациям молекул при реакциях, в которых участвуют высокомолекулярные соединения, придается за последнее время все большее значение. Но при этом совершенно не затрагивается вопрос о возникновении различных обратимых конфигураций или деформаций крупных молекул (например, пептидных цепей) в живых системах. В свете современных представлений возникновение обратимых деформаций в нормальных условиях живых систем мыслимо, очевидно, лишь как результат непосредственного воздействия какой-либо молекулы (или молекулярной группы), т. е. как процесс чисто статистического характера, не подвергающегося никакой нормировке.

Геометрические параметры деформаций должны были бы распределяться при этом по различным возможным вариантам, т. е. вероятность типа, адекватного для дальнейшего определенного течения процесса, была бы чрезвычайно мала и определялась бы исключительно химической природой и энергетическими уровнями участвующих молекул. Но представление о факторе, регулирующем процессы деформации, равнозначно совершенно новой концепции молекулярных процессов в живых системах. Сущность такой нормировки мы можем рассматривать как установление более или менее стационарных преимущественных вероятностей возникновения деформаций, регионально, т. е. в зависимости от координат внутри клетки, различных по своим геометрическим параметрам».

Весь характер представлений А. Г. Гурвича о динамической упорядоченности возбужденных белковых молекул подчеркивает принципиальное значение «состояний» соединений, наряду с их химическим составом. Естественным общим выводом из этого является то, что

ферментативную активность можно рассматривать как временные активные состояния белковых молекул, деформированных или входящих в констелляции, состояний, которые могут быть полностью обратимыми или могут зафиксироваться, приобретая стойкие изменения конфигураций или строения при обработке клеточного субстрата.

Развивая эту точку зрения дальше, А. Г. Гурвич говорит о принципиальной возможности того, «что процессы синтеза клетки катализируются не специальными автономными ферментами, а моментом пребывания низкомолекулярных тел в составе неравновесных констелляций, так как всегда может осуществиться возникновение устойчивой связи между элементами констелляции. Процессы распада в значительной мере обуславливаются непрерывным выходом низкомолекулярных соединений из неравновесных констелляций» (А. Г. Гурвич, 1944).

С этой точки зрения трудное для понимания представление о том, что во время голодания организма расщепляющие ферменты сохраняются и функционируют в полной мере на фоне все увеличивающегося расщепления каких-то других белков, совершенно утрачивает значение.

Несомненно, что современные иммунологические и энзимологические представления, придающие специфическое значение конфигурациям белковых молекул, близки к приведенным здесь формулировкам, хотя они держатся пока в рамках необратимых деформаций.

С этой точки зрения интересен взгляд о взаимном влиянии фермента и субстрата (Burnet, 1958), опирающегося на представления Pauling (1948) и обобщающего их. Механизм возникновения адаптивных ферментов рассматривается как принципиальный, исходя из того, что во время формирования активной в ферментативном смысле молекулы белка ее конфигурация претерпевает как бы пластические перестройки под воздействием субстрата, которые после окончания синтеза белковой молекулы обуславливают уже ее ферментативную активность относительно этого субстрата. Но, как подчеркивает Burnet, требуется гораздо больше, чем модификация индуктором одной молекулы белка, т. е., по-видимому, в клетке осуществляется под влиянием одного

индуктора целая цепь процессов. Только таким образом можно понять, например, данные Pollock (1950), показывающие, что введение в бактериальную клетку пенициллина как индуктора в ничтожной концентрации (на клетку приходится только около 100 молекул) приводит к активному образованию пенициллиназы. На основании этих данных напрашивается вывод: в клетке поддерживаются условия, специально благоприятствующие развитию цепных процессов, причем процессов, связанных с конфигурационными изменениями молекул. Очевидно, что представление о неравновесно-упорядоченном состоянии молекулярного субстрата клетки, т. е. пространственной близости возбужденных молекул (пептидов, белков), полностью соответствует этим благоприятным условиям.

Насколько можно судить, понятие обратимых неравновесных деформаций белковых молекул может не только сочетаться, например, с современными представлениями о конформационных изменениях молекул ферментов при их аллостерической регуляции, но, внося в них понятие возбужденных состояний и миграции энергии, однозначно связанное с стерическими перестройками, значительно углубить их.

Однако наиболее важным является понятие нормировки стерических параметров молекулярных процессов со стороны вышестоящего уровня. Именно в этом можно видеть специфический для живых систем механизм действия целого, регулирующий процессы и основанный на известном ограничении в данный момент разнообразия процессов при сохранении, вследствие динамичности состояний, широких потенциальных возможностей.

Подход к молекулярным явлениям с этой точки зрения, как уже говорилось выше, принципиально нов и хотя фактических исследований в этом направлении еще немного, но перспективность работы несомненна. Мы видим ее в органическом слиянии биохимической и физиологической сторон вопроса. Действительно, если задача заключается, например, в выяснении зависимости динамического структурно-энергетического состояния саркоплазмы мышцы от спонтанного состояния нервных центров (термином спонтанность подчеркивается отсутствие каких-либо раздражителей) и если при этом наблюдается закономерное увеличение упорядоченного

состояния молекулярного субстрата саркоплазмы, коррелирующее с увеличением возраста животного, то такие данные дают в самой общей форме синтетическое представление о биохимически-физиологических явлениях.

Первые конкретные данные в этом направлении получены. Мы опишем их в главе, посвященной нервной и мышечной системам, но, делая упор на явление нормировки, т. е. регуляции состояний молекулярного субстрата саркоплазмы, связанной с возрастными изменениями животного, остановимся на этом и сейчас.

Основной интерес результатов заключается в сочетании возрастания ограничительных условий для молекулярных параметров с возрастанием же степени неравновесности молекулярной упорядоченности. Другими словами, под воздействием центров (вероятность именно этого представления будет показана в первой главе) в саркоплазме мышцы наводятся все более строгие, т.е. более однотипные, условия регуляции пространственных параметров молекулярного субстрата. Лабильность и динамичность субстрата при этом даже возрастают. Иначе говоря, речь идет о возрастающей при увеличении возраста животного однотипности в непрерывном формировании неравновесных молекулярных констелляций и неравновесных деформаций, непрерывной, вследствие непрерывных же нарушений. Но, ограничения имеют, как было только что подчеркнуто, именно вследствие неравновесности чисто динамический характер, т. е. потенции субстрата к перестройкам, при изменении условий, полностью сохраняются [1].

Экспериментальное обоснование сказанному дает вполне типичная эволюция спектров спонтанного, т. е. свя-

---

[1] Несомненно, интересна в этом смысле аналогия, которую можно провести между этими формулировками и представлениями, высказанными в биохимии: «Интересно отметить, что многие ферменты не используют в клетке всей своей каталитической мощи, тогда как в растворе они могут проявить огромную каталитическую активность. Следовательно, условия в клетке могут не быть благоприятными для максимальной скорости действия ферментных систем. Физиологический смысл сохранения ферментами некоторого «запаса мощности» состоит в возможности повышения скорости данного биохимического процесса, если в этом возникает временная необходимость, например, вследствие изменений в составе среды или при усилении той или иной физиологической нагрузки» (К. А. Кафиани «Ферменты», 1964).

занного с состоянием покоя, излучения икроножной мышцы у кроликов различных возрастов. Не вникая в детали результатов, мы хотим подчеркнуть здесь только общий характер картины. С увеличением возраста животного наблюдается как бы собирание отдельных узких спектральных полос в одну область и формирование, в конце концов, одной широкой полосы, характерной для излучения мышцы взрослого животного.

Спектральные данные являются, таким образом, показателем однозначной эволюции энергетического и неравновесно-структурного состояния субстрата мышцы, имеющего несомненное значение для протекания химических процессов и вместе с тем показателем молекулярного механизма воздействия (и в какой-то степени взаимодействия) центров на мышцы, т. е. процессов, характеризуемых как чисто физиологические.

В углублении и расширении этих данных и в целеустремленных поисках аналогичных явлений мы видим дальнейший плодотворный путь исследований принципа «нормировки» структурных молекулярных состояний, выражающей, с нашей точки зрения, основные закономерности взаимодействия отдельных функциональных систем в общей системе целого. Очевидно, что в свете высказанных выше представлений проблема целого понимается как изучение его проявлений.

Рассмотрим в самой общей форме соображения относительно разрабатываемого сейчас чисто химического подхода к проблеме наследственности. С нашей точки зрения, главный недостаток построений экспериментальных генетиков и биохимиков заключается в их фрагментарности, обусловленной отсутствием вопроса об условиях, ведущих весь процесс. При изучении чисто биологической, очень глубокой проблемы, принципиальное решение которой должно быть дано для объектов различной сложности, нацело отсутствует постановка вопроса о необходимости непрерывного учитывания сопряженной связи между явлениями различных уровней. Взаимоотношение целого и элементов, или иначе объемлющей для данного этапа системы и объемлемых элементов, не рассматривается и специфические пространственные закономерности, которые неминуемо должны доминировать при процессах развития и в основе которых должны лежать специфические же структурные

закономерности молекулярного субстрата, выводятся только постепенным ступенчатым путем Последовательность аминокислот в формирующемся белке, определяющаяся нуклеиновым кодом, определяет в свою очередь вторичную и затем третичную структуры белков и, таким образом, дело доходит до более высоких уровней.

Общий принцип координации отдельных этапов процессов, частично изученных с удивительным экспериментальным искусством, а частично пока чисто гипотетических, не только не считается нужным в настоящее время, но, может быть, даже не считается необходимым вообще.

Надо сказать, что эта сторона вопроса подвергается сейчас сильной критике, именно представления Dean и Hinshelwood (1963), Commoner (1964, 1965) мы имели в виду, когда говорили, что в современной литературе появляются точки зрения приближающиеся, а иногда даже совсем близкие к изложенным построениям. Однако конкретные указания о дальнейших путях исследования имеются только в работах А. Г. Гурвича.

Рассматривая различные данные, обосновывающие теорию генетической информации, Hinshelwood говорит: «Различные стороны этой теории, указывающие на развитие количественных понятий в биологии, очень характерны для современных течений. Ценные, многие из них захватывающие, они, вместе с тем, во многих отношениях не координированы и не дают истинной количественной трактовки клетки как работающей единицы. О клетке часто говорят как о совокупности некоординированных механизмов. «Регуляторные гены» включаются и выключаются, но чем являются регуляторные гены и репрессоры как не частичными выражениями общего количественного баланса клетки?

Структурный код, какому бы уровню в клетке он не приписывался, контролирует всю совокупность потенций. Проявление и уравновешивание потенций управляется определенными общими принципами, игнорирование которых приведет к результирующему беспорядку». И дальше... «При игнорировании целого часто появляется нужда в объяснении каждого нового факта новой, взятой ad hoc гипотезой».

Критический подход Commoner к генетическому коду основан главным образом на том, что он противоречит

концепции эпигенеза. ...«Идея о том, — говорит Commoner, — что в основе наследственности и развития лежит самовоспроизведение ДНК, непосредственно противоречит определенным биологическим принципам (в частности, принципу эпигенеза), которые твердо установлены с помощью наблюдений и экспериментов над живыми существами».

В этом точка зрения Commoner очень близка к взглядам А. Г. Гурвича.

Ведь предпосылки теории поля и сама полевая концепция, так же, как понятие о специфической для живых систем неравновесной молекулярной упорядоченности, являются теми звеньями, которые облекают ядро преформационных представлений в новую форму — инвариантного принципа действия (принципа поля). Вместе с тем они закономерно связывают его через сопряженную зависимость различных уровней с неудержностью развития в эпигенетическом смысле, т. е. с непрерывным возникновением новых признаков в виде реализаций актуальных предпосылок.

ГЛАВА 4. Митогенетическое излучение как метод анализа возбудимости и возбуждения нервных и мышечных элементов

Несомненное своеобразие процессов, наблюдающихся при изучении нервной и мышечной систем не дают нам права выделить их из ряда других биологических явлений, напротив, они заставляют искать общие для тех и других подходы, на которых уже должны основываться специфические характеристики.

Основа такого общего подхода заключается, с нашей точки зрения, в необходимости изучения формирования функциональных состояний, так же как эмбриолог изучает процесс осуществления формы при развитии зародыша. Говоря это, мы подразумеваем не постепенное развитие функций во время онтогенеза, а закономерную смену изменений уже адекватного субстрата, с которой связано возникновение нового функционального состояния, приводящую к возникновению нового ощущения или нового проявления.

Центр тяжести переносится, таким образом, на анализ субстрата и мы переходим к молекулярному субстрату, но, сохраняя при этом вполне определенную точку зрения, т. е. анализируя его неравновесную пространственную организацию. Очевидно, что понятие молекулярной организации не заменяет понятия стабильных структур нервных фибрилл, миозиновых цепей и т. д., а относится к тому субстрату, в который эти элементы «погружены», будь это содержимое нейрона или субстрат, окружающий нейроны, т, е. нейроплазма или саркоплазма мышечных волокон.

Динамичность именно такой молекулярной организации и, вместе с тем, как будет видно из фактического материала, ее зависимость от взаимодействия элементов в рамках целого адекватны тому, что характеризуется как возбудимость системы или, точнее, как способность к от-

клонениям, временно выходящим из рамок динамического равновесия.

Излучение как симптом состояний субстрата. Судя по довольно большой интенсивности излучения нервной системы по сравнению с другими биологическими объектами, мы можем оценить ее митогенетический режим как насыщенный. Естественно поэтому думать, что в нервном субстрате идут и такие не специфические процессы, как синтез пептидов, возникновение лактимной формы пептидной связи и т. д., для возникновения которых фотонное возбуждение молекул является, если не решающим, то во всяком случае очень важным.

Но наряду с этим можно предположить, что прямым или косвенным последствием поглощения фотона могут быть и такие изменения субстрата, которые нужно характеризовать как специфические, т. е. связанные состерическими перестройками или в более общей форме с изменениями молекулярной упорядоченности.

Мы можем рассматривать излучение нервных и мышечных элементов как тонкий симптом специфических состояний субстрата, дающий вместе с тем возможность их изучения.

Изложению основного материала нужно предпослать еще некоторые факты, о которых мы говорили, но которые уместно подчеркнуть еще раз. Уже в самом начале исследований излучения нервной системы и мышц встал вполне естественный вопрос, может ли миелиновая оболочка быть прозрачной для ультрафиолетового излучения. На первый взгляд излучение из глубины нервного волокна остается для нас недоступным. Такому выводу, однако, самым определенным образом противоречили многочисленные и разнообразные данные, указывающие, что характер спектров нервов и коры, несомненно, связан с функциональным состоянием системы. То же можно сказать и относительно печени, спектры излучения которой необычайно быстро реагируют на введение под кожу ничтожных количеств некоторых веществ, несмотря на наличие глиссоновой капсулы.

Удовлетворительное объяснение этому противоречию дали специальные опыты, показавшие, что оболочки способны к вторичному излучению, которое и обуславливают их кажущуюся прозрачность. Экспериментально это было показано на довольно больших поверхностях

снятой твердой мозговой оболочки кролика и на брыжжейке лягушки. Локальное облучение их вызывало явление вторичного излучения, распространяющегося на некоторую поверхность вокруг облучаемого места Спектральный анализ вторичного излучения показал, что оно может возбуждаться различными спектральными областями, входящими в диапазон митогенетического излучения и, что вторичное излучение сравнительно строго резонантно, т е. что высвечиваются с максимальной (митогенетической) интенсивностью те спектральные области, которыми оболочка облучается **в** данном **опыте.**

АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРОЦЕССОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ СВЯЗЬ НЕРВНОЙ И МЫШЕЧНОП СИСТЕМ

Молекулярная упорядоченность субстрата и ее неравновесный характер

Наличие молекулярной упорядоченности субстрата **в** организованных системах наиболее наглядно подтверждается фактами излучения нерва, распространяющегося без всякого декремента на большие расстояния. Проведение излучения в нервных и мышечных волокнах, т. е., образно говоря, в длинных и тонких трубках можно представить только при наличии чрезвычайно благоприятных условий, способствующих передаче энергии от одной молекулы к следующей К ним, несомненно, относится близкое пространственное распределение молекул, которое естественнее всего представить в виде молекулярных цепей, расположенных соответственно форме волокна

При неупорядоченном статистическом распределении молекул цепные процессы должны были бы быстро затухнуть.

Помимо этих общих соображений, мы располагаем экспериментальными данными непосредственно или косвенно, но очень убедительно говорящими о пространственно-упорядоченном распределении молекул

К ним можно отнести результаты опытов, проведенные Л. В Латманизовой (1934). Она показала, что приблизительно получасовое облучение каким-нибудь источ-

ником митогенетического излучения одного и того же участка нерва (нервно-мышечный препарат лягушки в влажной камере) вызывает в этом участке своеобразное состояние митогенетического истощения, которое можно обозначить как митогенетический парабиоз. Подвергнутый облучению участок теряет способность к проведению вторичного излучения, вызываемого кратковременным облучением вышележащей свежей области нерва,

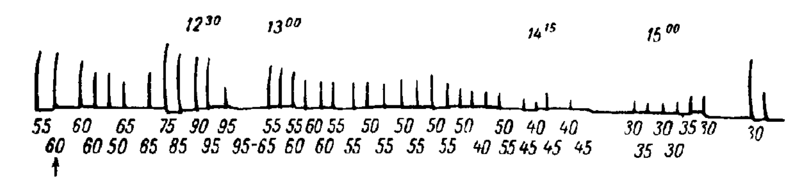


Рис. 18. Парабиоз нерва при облучении митогенетическим источником в течение 3 *ч* (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

Стрелка показывает начало облучения, цифры указывают на расстояние между первичной и вторичной обмоткой катушки. Приблизительно через 0,5 ч после начала облучения повышенная возбудимость. Через 2 - 2 , 5 Ч парадоксальная фаза После окончания облучения постепенное восстановление возбудимости.

но сохраняет способность реагировать излучением при его непосредственном облучении.

Наиболее правдоподобное объяснение этих явлений заключается в том, что следствием длительного облучения является нарушение проводящего молекулярного аппарата, т е. молекулярной упорядоченности. Способность же непосредственной флуоресценции неупорядоченно расположенных молекул не представляет ничего неожиданного.

Удлинение локального облучения нерва до 4—5 *ч* значительно углубляло картину нарушения, приводя к последствиям, которые можно было уже наблюдать по функциональным проявлениям. Местная непроводимость нерва наступала и при процессах, вызываемых электрическим раздражением выше облучаемого участка. Причем наблюдалась последовательность процессов, характерная для образования классического парабиоза по Введенскому — повышенная возбудимость, парадоксальная фаза, постепенное падение возбудимости и возникновение блока. Возникшие явления были обратимы (рис. 18).

С довольно большой точностью была определена скорость распространения вторичного излучения по нерву, достигающая 30 ж в 1 *сек,* т. е. совпадающая с гельмгольцевской скоростью распространения возбуждения (Л. В. Латманизова, 1932).

С этой же точки зрения мы должны подходить и к элементам неиропиля центральной нервной системы. На это указывают, например, следующие экспериментальные данные. Мозговая кора кролика и полушария лягушки дают ясно выраженное излучение во время освещения глаза. Незначительное, т. е. локализованное и неглубокое, поранение поверхности мозга временно нарушает способность коры к излучению, несмотря на продолжающееся световое раздражение. Потеря способности к излучению охватывает обширную поверхность, около 2 $см^2$ у кролика и полушария целиком у лягушки.

Скорость восстановления излучающей способности видна из следующих цифр:

	%
Через 1 *мин* после поранения	5, 2
» 3 » » »	9, 30
» 5 » » »	25, 50

Наряду с этим наблюдается также временная потеря способности мозговой ткани к проведению вторичного излучения, распространяющаяся на такую же большую поверхность. Само возникновение этого «митогенетического шока», а главное его распространение на большую площадь и вместе с тем быстрая обратимость делают очень убедительным представление о том, что причиной шока является нарушение субстрата молекулярных цепных процессов, т. е. другими словами, молекулярной упорядоченности.

Дальнейшее развитие экспериментов показало, что элементу непрерывности в представлениях о молекулярной упорядоченности можно приписать гораздо большее значение, чем об этом можно было думать. Выяснилось, что поранение мозговой коры приводит не только к нарушению ее излучающей способности, но и к исчезновению излучения зрительного нерва, носящему тоже временный характер. Излучение зрительного нерва лягушки составляло:

	%
До поранения полушарий . .	54, 33, 25
После » » . •	3, 5, 6.

Мы должны, очевидно, представить себе, что единицы, дифференцированные в морфологическом и в функциональном смысле: кора, подкорковые центры, зрительный нерв, — обладают общими энергетическими уровнями, т. е. соответствующей организацией молекулярной упорядоченности (возможно двухмерного и трехмерного характера), являющейся субстратом для распространения цепных процессов.

Обобщая и экстраполируя изложенное, нужно таким образом представить, что процессы, отвечающие за поддержание возбудимости субстрата и реализацию возбужденных состояний, протекают в молекулярно-упорядоченной среде, т. е. изменения молекулярного субстрата должны быть однозначно связаны с функциональными изменениями.

Если молекулярный субстрат непрерывно перестраивается, то как можно охарактеризовать такой субстрат и каков характер перестроек? Мы подошли здесь вплотную к вопросу о применимости принципа неравновесной молекулярной упорядоченности к субстрату нервной и мышечной систем. Рассмотрим с этой точки зрения некоторые данные.

В излучении нервной системы поразительно ярко проявляются следующие закономерности: 1) принципиально неограниченное, по-видимому, разнообразие спектров, связанное с различиями функциональных состояний, которое мы подробно рассмотрим дальше; 2) спонтанная ритмичность излучения, т. е. прерывистость по времени, ясно проявляющаяся при простом экспериментальном приеме — последовательном включении между нервом и детектором излучения вращающихся дисков с различным числом секториальных вырезов. При определенных частотах излучение нерва не улавливается, что может быть объяснено только перекрыванием спонтанных вспышек излучения близкой к ним ритмикой пробегов открытых и закрытых мест диска.

Это явление было изучено на зрительном нерве лягушки при непрерывном освещении глаза и на мышцах в состоянии покоя (А. А. Гурвич, 1934). Порядок частоты вспышек несколько сотен в секунду.

Обе группы данных: разнообразие спектров при различных функциональных состояниях и ритмичность

излучения делают очень вероятным представление об излучении нервной и мышечной системы как о явлении, непосредственно связанном с перестройками и изменениями лабильного молекулярного аппарата. Такие изменения могут быть разнообразны, отвечая этим разнообразию спектров, они могут быть и периодичны, «разряжаясь» от накопленного до известного предела запаса энергии. Во всяком случае такого рода допущение является более естественным, чем представление о частых колебаниях уровня метаболизма. Мы рассматриваем поэтому излучение этих функциональных систем как естественно протекающее деградационное излучение, последовательность процессов, при котором нужно, как известно, представлять следующей: часть энергии метаболизма переходит в форму потенциальной энергии «положения» молекул и является одним из необходимых факторов (наряду с организующим принципом поля) для создания неравновесной молекулярной упорядоченности. Накопление идет до известного уровня, после чего энергия выделяется частично в виде излучения.

С точки зрения этих общих представлений мы будем рассматривать разнообразный экспериментальный материал, включающий результаты, полученные при изучении чисто физиологических состояний и при воздействии различных, отчасти и деградирующих, факторов.

Деградационное излучение коры мозга

Охлаждение поверхности мозга на интактном животном во время возможно полного выключения всех внешних раздражений, т. е. при условном состоянии покоя, вызывает деградационное излучение. Мы судим о нем как по возрастанию интенсивности излучения по сравнению с излучением покоя, так и по возникновению новых спектральных полос.

Длительность деградационного излучения зависит от температуры. При нерезком охлаждении (3—4° для лягушек и 10—12° для кроликов) излучение продолжается приблизительно 5—6 *мин.*

Эффект деградационного излучения полушарий лягушки при 3—4° С, по нашим данным, составляет в зависимости от времени с момента охлаждения следующие цифры;

Через 30 *сек*—1 *мин*			32
»	3		24
»	6	. . .	11
>	9		7
»	12		6

Во время первых 5—6 *мин* излучения удалось констатировать также изменение спектрального состава по времени. При еще более мягком охлаждении полушарий лягушек до 6—7° длительность излучения достигает 15—20 *мин*.

Эти опыты не только устанавливают неравновесный характер молекулярной упорядоченности в мозговой коре, но позволяют в известной степени проанализировать и характер констелляций, так как большая длительность излучения и эволюция спектрального состава позволяют думать о различиях энергетических уровней и связанных с этим различиях конфигураций констелляций.

Деградационное излучение мышц и нервов

Изучение излучения мышц в опытах in vivo позволило составить представление об энергетическом и структурном состоянии саркоплазмы мышечных волокон. Мышцы, как известно, излучают и в состоянии покоя (тонуса) и, сильнее, в возбужденных состояниях. Вместе с тем, ясная картина данных, получаемая на мышцах и отчасти на нервах, позволяет составить суждение о взаимодействии между центрами и периферией, проявляющемся в изменении состояний молекулярного субстрата.

Такого рода взаимодействие создает особую «настройку», или «модуляцию», субстрата (к этим важным понятиям мы будем еще возвращаться), и только при этом условии может быть обнаружено излучение мышц в состоянии покоя. Разрушение спинномозговых центров, а тем более изоляция мышцы приводят к нарушению ее способности излучать при спокойном состоянии. Однако при не физиологическом способе раздражения, например при непосредственной электризации, мышца излучает и в изолированном состоянии.

Эти явления и ясно выраженная зависимость излучения нерва от наличия связи с мышцами ясно указывают,

насколько широк и всеобъемлющ принцип взаимодействия элементов, входящих в спинномозговую систему как в целое.

Еще большую наглядность, связанную, однако, с разнообразием проявлений, придают характеру взаимодействия данные, полученные на целом животном, показывающие, например, что интенсивность излучения икроножной мышцы лягушки резко падает при непосредственном действии на обнаженные полушария такого наркотического вещества, как хлорал-гидрат, но что, судя по немногочисленным еще результатам, неглубокий ингаляционный наркоз (эфир) несколько повышает излучение икроножных мышц кролика и меняет характер спектра излучения.

Излучение мышцы лягушки составило:

	%
До наркоза	25, 52, 72
Почти непосредственно после начала наркоза	0, 6, 6

Перейдем сейчас к результатам, ясно показывающим возникновение деградационного излучения мышцы интактного животного при ее охлаждении (А. А. Гурвич, 1960) (табл. 16, 17).

ТАБЛИЦА 16

Излучение икроножной мышцы лягушки

Время экспозиции в секундах	Излучение в %		
	до перерезки		после перерезки седалищного нерва
	М5-16°	/-2-3°	/-2—3°
3	—7, —8, 6	31, 10, 42, 66, 35	8, 10
5	4, 6		5
8	35, 63, 52, 33, 39, 60, 65		

На основании сравнения пороговых экспозиций видно, что излучение при охлаждении приблизительно в три раза интенсивнее излучения спокойной мышцы при нормальной для данного животного температуре.

ТАБЛИЦА 17

Излучение икроножной мышцы кролика в покое

Время экспозиции в секундах	Излучение в % при	
	^-35-38° С	t-10-12°С
3		23, 62, 31
5	—8, 2, 4	
8	36, 70, 10	

Примечание. Излучающая поверхность мышц равнялась в обоих случаях 12 *мм*^{2}.

Эти данные позволяют сделать следующий общий вывод. Мышца находится в состоянии покоя на высоком энергетическом уровне. Выход энергии при этом в форме излучения невелик, однако он легко повышается, сигнализируя о высоком энергетическом потенциале при искусственном вмешательстве — охлаждении. Этот последний факт показывает, что энергетическое состояние мышцы чрезвычайно лабильно и подтверждает, что спокойное излучение мышц интактного животного нужно рассматривать как физиологическое деградационное излучение, т. е. как результат непрерывной смены нарушений и восстановлений неравновесного молекулярного субстрата.

Однозначный ответ мог быть получен при помощи спектрального анализа, так как идентичность или даже близость спектров спокойного (спонтанного) излучения мышцы и излучения, вызванного ее охлаждением, прямо указывали бы на деградационный характер излучения в состоянии покоя. Спектральное разложение было проделано поэтому на достаточно большом количестве опытов, в которых применялось как сравнительно грубое разложение всего спектрального диапазона на 100 Å, так и более детальное изучение проявившейся эффективной области спектра. В первом случае ряд спектральных областей был снят одновременно, что важно при изучении физиологического состояния в опытах i*n* vivo.

Как видно из табл. 18, объединяющей спектральные данные, полученные на лягушке и на кролике, рабочая экспозиция для спокойного излучения равна 12—15 *сек,* для излучения при охлаждении мышц она снижается до 5—6 *сек*. Вследствие технических условий кролик был

ТАБЛИЦА 18

Спектральный анализ излучения икроножной мышцы

Длины волн в Å	Спокойное излучение мышцы в %		Деградационное излучение мышцы в %	
	лягушки при 15-16° C	кролика при 35-38° C	лягушки при 2-3°	кролика при 10-12°
1900—2000	— 3	— 7	2	— 3
2000—2100	1	— 1	3	7
2100—2200	5	1	12	0
2200-2300	50	53	42	55
2300—2400	— 7	2	5	— 3
2400—2500	2	— 3	—2	
2500—2600	1	- 6	11	4
2600—2700	5	— 3	1	—2
2700—2800	- 2	2	4	6
2800—2900	— 1	5	8	3
2900—3000	4	— 6	— 2	9
3000—3100	5	1	13	2
3100—3200	2	8	1	11

расположен дальше от коллиматора спектрографа, чем лягушка. Этим объясняется приблизительная идентичность экспозиций, несмотря на более интенсивное излучение мышц теплокровных по сравнению с лягушками.

Грубое разложение спектров показывает не только несомненное сходство мышц лягушки и кролика, но и сходство спокойного и деградационного излучения Это дает уже значительно более веское обоснование представлению о физиологическом состоянии спокойной мышцы как о естественно протекающих сменах нарушений и восстановлений неравновесной молекулярной упорядоченности.

Более детальное изучение эффективной области спектра (разложение 2200—2300 Å), проделанное пока для спокойного состояния икроножной мышцы, показало реальную ширину спектральной полосы, равную в среднем 60—70 Å. При повторении опытов наблюдалась, однако, несомненная флуктуация границ. Этот последний факт вполне естествен, указывая на лабильность излучающего субстрата. Вместе с тем, он позволяет дать только приблизительное определение положения полосы, занимающей область в указанных границах или выходящей

несколько за их пределы. Различия между спектрами лягушки и кролика не выходят за пределы этих флуктуации.

Обнаруженная ширина полосы представляет, с нашей точки зрения, большой интерес Мы увидим в дальнейшем, что степень ширины спектральных полос можно, по-видимому, рассматривать как критерий молекулярной упорядоченности саркоплазмы.

Вместе с тем, бросается в глаза большая ограниченность эффективной области спектра икроножной мышцы, выраженной только одной полосой Естествен был вопрос, не является ли такая ограниченность характерной для спокойного излучения и других мышц. Изучение спектров излучения полуперепончатой мышцы лягушки и двуглавой мышцы кролика показывает, однако, что для этих мышц характерно большее число полос, большинство из которых обладает тоже довольно значительной шириной. Распределение их для каждой мышцы различно и специфично.

Такая «спектральная индивидуальность» спокойных мышц приводит, как нам кажется, к следующему важному выводу: одинаковое, с функциональной точки зрения, состояние покоя различных мышц осуществляется при различных вариантах их молекулярных субстратов, т. е. с молекулярной точки зрения состояния покоя различны. Как связать эти два положения?

Перед нами встает следующая альтернатива: молекулярные представления ничего не дают для анализа субстрата возбудимости. Или, напротив, молекулярные представления полезны, заставляя нас принципиально расширить характеристику физиологического состояния покоя систем [1].

Необходимо ввести понятие функционального соответствия или функциональной адекватности систем друг относительно друга, т. е. рассматривать их всегда с точки зрения непрерывно осуществляющегося взаимодействия между ними.

С молекулярной точки зрения это означает, например, наличие общих параметров в организации субстратов систем, дающих возможность распространения более

[1] Понимая системы в самом общем смысле — нервные центры, рецепторы, двигательные системы.

или менее подобных стерических цепных процессов на достаточно большие протяжения.

Анализ непрерывного и глубокого, т. е. относящегося к молекулярному уровню, взаимодействия отдельных систем внутри обширной функциональной системы как целого будет задачей всего дальнейшего изложения.

Излучение икроножной мышцы в различные возрастные периоды животного. Ясное подтверждение изложенного выше дает группа данных, полученных при изучении излучения икроножной мышцы маленьких кроликов (А. А. Гурвич, В. Ф. Еремеев, М. А. Липкинд, 1961).

Опыты ставились на животных, начиная с односуточного и до двухнедельного возраста. Нужно отметить, что к мышцам кроликов в первые дни после рождения неприменимо, в сущности говоря, понятие покоя в том смысле, как к взрослым животным. Это видно и по почти непрерывной подвижности маленьких кроликов и известно из электрофизиологических данных. Для экспозиций, во время которых регистрировалось излучение, выбирались поэтому те короткие промежутки времени, в

ТАБЛИЦА 19

Интенсивность спокойного и деградационного излучений икроножной мышцы кроликов в различные возрастные периоды

Возраст в сутках	Экспозиция в секундах	Эффект спокойного излучения в	Экспозиция в секундах	Деградапиоиное излучение в
1—2	**3**	**40**	**5** **8**	**5** **36**
4 - 5	**3** **5**	**—3** **28**	сою	**—2** **27**
9	**3** **5**	**10** **36**	сою	**—10** **20**
16	**5** **8**	**2** **24**	**3**	**48**
Взрослые кролики	**5** **8**	—3 45	**3**	**39**

Примечание. Приведены средние величины из двух опытов.

течение которых иммобилизированные на станке животные были во всяком случае внешне спокойны.

Было показано, что спокойное излучение, выраженное наиболее ярко в первые дни постнатального развития, убывает по мере роста животного и после двух недель становится по интенсивности приблизительно стабильным.

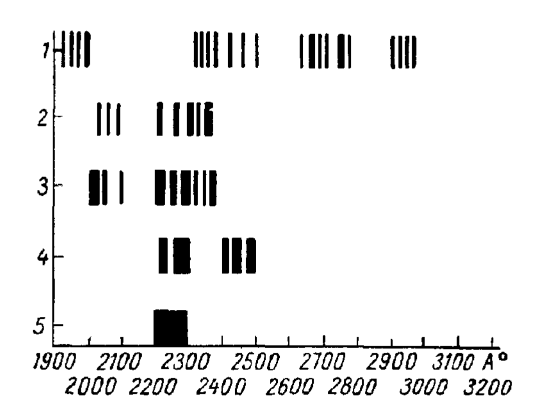


Рис. 19. Спектры излучения икроножной мышцы кролика в различные возрастные периоды (А. А. Гурвич, 1966).

1 — 1-е; *2* — 2-е; *2* — 6-е; *4* — 9-е; 5 —16-е сутки.

Изменения деградационного излучения имеют обратный характер, т. е. с ростом животных наблюдается нарастание интенсивности, приобретающей приблизительно тоже к двухнедельному возрасту постоянный характер (табл. 19).

Паралльно с этим происходит эволюция спектров спокойного излучения мышцы. Большое количество узких полос, характерное для первых дней развития, постепенно убывает; возникающие новые полосы, группирующиеся главным образом в более коротковолновой части спектра, характеризуются большей шириной, которая по мере увеличения возраста становится все более выраженной. К двухнедельному возрасту спектр приобретает свой окончательный, типичный для взрослого животного, характер — он содержит одну широкую полосу в области 2200—2300 Å (рис. 19).

К этому же сроку заканчивается формирование мионейральных связей, вырабатывается поза стояния и наступает прозревание животного, т. е. возникновение полноценного функционального состояния высших центров.

Возможность сопоставления митогенетических и функциональных данных и выявления параллелизма между ними является, конечно, важной, показывая еще раз физиологичность наблюдаемых молекулярных явлений и необходимость изучения более глубоких связей[1]. Но, помимо этого, из полученных результатов можно было сделать и более частные выводы: 1) широкополосность спектров является показателем возникновения неравновесной молекулярной упорядоченности; 2) результаты еще раз указывают (и на этот раз без экспериментального вмешательства) на значение центральных воздействий для непрерывного поддерживания неравновесной молекулярной упорядоченности субстрата мышц взрослых животных.

Излучение мышцы при ослаблении воздействия со стороны центров. Дальнейшее изучение непрерывной «настройки» молекулярного субстрата саркоплазмы, идущей со стороны нервных центров, проводилось при нарушении или ослаблении воздействия центров:

1) спектр излучения мышцы изучался через некоторое время после перерезки мозгового ствола у основания продолговатого мозга, т. е. нарушения целости нервной системы в отдаленном от мышцы участке;

2) во время общего эфирного наркоза, тормозящего в первую очередь активность высших центров;

3) во время охлаждения значительного участка спинного мозга через костный покров, т. е. без нарушения целости позвоночника, но при удалении спинных мышц.

Результаты, полученные при этих трех модификациях, аналогичны. Вместо одного широкого максимума излучения (2200—2300 Å) возникает ряд полос в различных участках спектра (рис. 20). Судя по еще незаконченным

---

[1] Несомненный интерес представляет, с этой точки зрения, сопоставление наших данных с детальными исследованиями нервно-мышечного аппарата в ранние возрастные периоды животных, проводимыми И А. Аршавским и его школой (Аршавский, 1958. Розанова, 1938, 1941).

данным детального расчленения спектров, ширина большинства полос значительно меньше.

Наряду с этим спектр излучения икроножной мышцы изучался также и после длительного общего охлаждения лягушек (двухсуточное сидение на льду). Этим путем можно было рассчитывать получить сведения о тех вероятных изменениях неравновесного молекулярного субстрата мышцы, которые связаны с понижением метаболизма всего организма. Причем нельзя было исключить

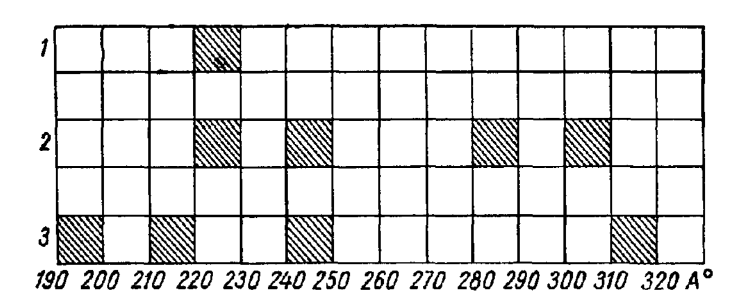


Рис. 20. Спектры излучения икроножной мышцы лягушки (А. А. Гурвич, 1962).

1 — в норме; *2* — при обшем охлаждении; 3—**при общем наркозе.**

возможность того, что такое длительное постепенное понижение метаболизма может быть связано не только с количественным изменением энергетического уровня, но и с изменением характера протекающих процессов — меньшей вероятностью глубоких диссоциаций молекул, меньшей возможностью синтезов и т. д.

Изменения спектра излучения проявлялись при этом условии в возникновении ряда новых полос, причем, судя по полученным данным, они тоже значительно сужены.

Таким образом, и нарушение, и ослабление центральных воздействий, и понижение общего энергетического уровня организма приводят, по-видимому, к значительному ослаблению степени упорядоченности субстрата мышцы. Сужение спектральных полос и их разбросанность по всему спектральному диапазону, несомненно, связано с этим.

ЗАВИСИМОСТЬ ИЗЛУЧЕНИЯ НЕРВОВ ОТ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МЫШЦ

Мы подробно рассмотрели явления, показывающие значение непрерывного регулирующего воздействия нервных центров для поддержания молекулярной упорядоченности саркоплазмы мышц, но митогенетическое излучение показывает, что понятие одностороннего воздействия является недостаточно полным.

Наши представления о нервной и мышечной системах должны быть связаны с принципом взаимодействия в непрерывном и полном смысле этого слова, означающем, что «организация» молекулярного субстрата мышечных и нервных элементов является в каждый данный момент в значительной степени результирующей их взаимодействия.

Экспериментальный материал, полученный на периферических нервах, показывает, что и смешанные нервные стволы (седалищный нерв) и чисто чувствительные нервы излучают только в том случае, если они входят в состав более обширной и сложной системы, т. е. если сохраняется их связь с центрами или периферией, а для некоторых состояний и с центрами и с периферией. Это последнее является обязательным для состояния покоя (тонуса) и для состояний возбуждения, вызванных адекватными раздражениями рецепторов.

Излучение, возникающее при искусственных приложенных непосредственно к нерву раздражениях, не требует сохранения связи и с центром, и с периферией. Причем, в этих случаях наблюдается различие между смешанными и чисто чувствительными нервами Для излучения седалищного нерва необходимо и достаточно сохранение связи с мышцами. Напротив, для излучения чисто чувствительных нервов, например спинных кожных нервов лягушки, необходимой является связь с центрами, периферический конец нерва может быть нарушен

Нарушение связи нервов с центром и с периферией на седалищном нерве и на кожных нервах (лягушка) достигалось различными путями. Опыты, производившиеся через некоторое время после нанесения травмы, ставились как на спинальных лягушках, так и на нервно-мышечных препаратах (с сохранением спинного мозга

и всех мышц голени и нижней части лапки) Эффект излучения седалищного нерва лягушки составлял:

	%
В норме	26,24,20,29;
После перерезки дистального конца	6, 8,
» » . проксимального конца	11, 6.

Не анализируя пока результатов глубже, мы можем все же сказать, что излучение нерва, отражающее полноценное физиологическое состояние покоя, связано с непрерывным активным взаимодействием центров и периферии При рефлекторном раздражении (фарадизация контралатерального нерва) излучение наблюдается тоже при сохранении связи только с мышцей (табл 20). Связь с мышцей обуславливает также способность нерва к проведению вторичного излучения.

ТАБЛИЦА 20

Зависимость излучения нерва от различных воздействий

Способ раздражения	Эффект излучения в % при нарушении целости	
	на проксимальном конце	на дистальном конце
Рефлекторное раздражение нерва с перерезанным дистальным концом		4 8, —8
Электрическое раздражение нерва с перерезанным дистальным и проксимальным концами	19, 40, 37	—5,-7,0,2
Электрическое раздражение нерва с лигатурами на дистальном или проксимальном концах	36, 41, 21	2, 5, —5
Проведение вторичного излучения нерва с лигатурами на проксимальном или дистальном концах	44,23, 46,32	10, 2, —12,5
Проведение вторичного излучения нерва при обжигании проксимального или дистального концов	31,31,32,54	5, —5, 8

Таким образом, воздействие со стороны мышц является необходимым условием для излучения нерва при искусственном раздражении Ясно выраженная обратная зависимость наблюдается на чисто чувствительных

нервах, способность к излучению которых при раздражении определяется связью нерва с центрами.

Излучение спинных кожных нервов (на целом животном) при электризации нерва составляло:

	%
В норме	39; 42; 30; 50; 30;
После перерезки проксимального конца	0; 1Г, —8; 2; 2; 6; 0; 4; —2;
» » дистального конца . .	30; 35; 25; 28.

Дальнейшие опыты, в которых применялось рецепторное, т. е. физиологическое, раздражение чувствительного нерва расширили наше представление о степени и характере взаимодействия центров и периферии.

Путем раздражения кожных рецепторов возбуждался задний кожный бедренный нерв лягушки, входящий, как известно, в ствол седалищного нерва. При этом ставился следующий вопрос: отразится ли на излучении n. Cutaneus fem. posterior перерезка дистального конца седалищного нерва? Отличие такой постановки опыта от предыдущих состояло в том, что кожная веточка непосредственно не травмировалась. Можно было, однако, предполагать, что изменения состояния нервных центров вследствие перерезки седалищного нерва (т. е. нарушения его связи с большой группой мышц всей нижней части лапки и с кожными рецепторами в этой области) должны будут отразиться на состоянии, а следовательно, и на излучении n. Cutaneus.

На декапитированных, а в некоторых случаях и на целых лягушках осторожно отпрепаровывался на внутренней поверхности кожи бедра участок n. Cutaneus posterior и испытывалось его излучение как в нормальном состоянии всего нервного ствола, так и через некоторое время после перетяжки или перерезки дистального конца седалищного нерва. Опыты производились без применения внешних раздражений.

При тоническом состоянии покоя эффект излучения составлял:

	%
До перерезки седалищного нерва	22,25,32,33
После перерезки седалищного нерва	18,21,30,35.

Таким образом, изменение состояния функциональной системы не отражается на общей интенсивности излучения.

Другие результаты наблюдаются, однако, при возбуждении кожной ветки (табл. 21).

ТАБЛИЦА 21

Излучение n. Cutaneus femoris posterior при различных раздражениях кожных рецепторов

Характер раздражений	Излучение в %	
	до перерезки нерва	после перерезки
Аппликация 0,2N H_2SO_4	25; 22; 24; 40	8; 8%; —2; - 6
Груз 20 г	35; 45	—2; 13
Пощипывание кожи	33; 24; 30; 46	3; 5; 9; 4

Интенсивность излучения, связанного с возбужденными состояниями, резко понижается после перерезки седалищного нерва. Мы стоим здесь, несомненно, перед сложной задачей, к которой будем еще возвращаться в связи с дальнейшим анализом процессов взаимодействия.

Ясность в этот вопрос должен внести спектральный анализ, и изучение спектра при этих условиях является поэтому очень важным.

Пока мы можем дать только общую формулировку. Для возникновения излучения при физиологическом возбуждении нерза требуется больше условий, чем при состоянии покоя. При возбуждении необходимой является не только связь нерва и с центральными элементами, и с периферией, но и полноценное нормальное состояние всей системы в целом. Но полученные результаты подчеркивают и другую сторону вопроса, которая будет рассмотрена дальше, — значительно большую диффузность возникающих в центральной нервной системе состояний, чем это можно было предполагать раньше. Ведь исчезновение излучения n. Cutaneus показывает, что, несмотря на то, что данная рефлекторная дуга не была непосредственно затронута, какое-то изменение состояния захватило и соответствующие ей центры.

Параллелизм между излучением нерва и функциональным состоянием мышцы

Внимательное наблюдение за рефлекторными сокращениями мышц конечности при легком пощипывании кожи на внутренней поверхности бедра показало, что, как правило, при нормальном состоянии всей функциональной системы реакция ограничивается слабыми сокращениями полусухожильной и полуперепончатой мышц, не захватывая другие мышцы. Сравнимые раздражения после перерезки седалищного нерва вызывали часто более диффузный характер реакции, захватывающий ряд мышц конечности. Однако в отдельных случаях регулярный и локальный характер ответа сохранялся и после перерезки.

Проведенное на довольно большом числе опытов параллельное исследование мышечных реакций и излучения n. Cutaneus fem, показало на следующий, бросающийся в глаза параллелизм: нервная веточка сохраняла способность к излучению после перерезки дистального конца седалищного нерва только в тех 2 случаях, когда сохранялся и локальный характер реакции обоих мышц бедра:

До перерезки седалищного нерва	28; 28; 35; 38; 30; 30; 48; 20; 30; 22; 24
После перерезки седалищного нерва	10; 6; 12; —3; —2; 40; 8; 12; 3; 50; 8; 2

Подчеркнуты те случаи, где регулярный характер рефлексов полностью сохранен. Полученные результаты позволяли идти дальше и попытаться более прямым способом выяснить степень зависимости субстрата нерва именно от воздействия мышц.

Модуляция нервов со стороны мышц. Мы пользовались методикой Weiss (1936) и пересаживали n. Peroneus лягушки в икроножную мышцу после предварительной перерезки и удаления кусочка n. Tibialis, последнее устраняло возможность обратной иннервации им икроножной мышцы.

У каждого из пяти перенесших операцию экземпляров неподвижная вначале конечность начинала прибли-

зительно через три недели функционировать, воспалительные явления к этому сроку исчезали и электрическое раздражение нерва давало ясную реакцию мышцы. Гистологическая обработка двух случаев показала типичную картину вросшего нерва, т. е. прорастание многочисленных нервных фибрилл в мышечные волокна.

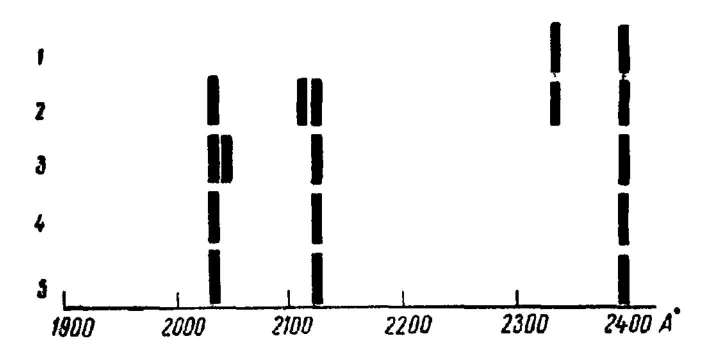


Рис. 21. Излучение п. Peroneus в различные сроки после пересадки (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

1 — норма, 2 — через 21 день после пересадки; 3 — через 27 дней; *4* — через 45 дней; 5 — норма.

Спектральный анализ излучения пересаженного нерва без применения каких-либо раздражений дал следующие результаты [1]: через 21 день после пересадки спектр пересаженного п. Peroneus отличался и от спектра нормального п. Tibialis и от спектра нормального n. Peroneus, представляя собой примерно сумму спектров обоих нервных веток. Через 27 дней спектр пересаженного n. Peroneus был почти сходным с спектром нормального n. Tibialis. Через 6 недель сходство (во всяком случае в данном участке спектра) было полным (рис. 21).

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что в том сложном комплексе процессов, который мы характеризуем как взаимодействие отдельных функциональных систем внутри общей системы как целого,

---

[1] Изучению был подвергнут не весь спектр, а только его коротковолновая область до 2500 Å,

воздействие на нервные волокна со стороны мышечных волокон является, во всяком случае, очень существенным.

Дальнейший вопрос может быть сформулирован в виде следующей альтернативы: ограничены ли молекулярные явления, лежащие в основе взаимодействия между нервной системой, рецепторами и эффекторами, односторонней проводимостью, или по одним и тем же путям, включая и синаптические участки, наряду с процессами, распространяющимися в ортодромном направлении, могут распространяться процессы и в обратном — антидромном направлении?

Второе предположение мы связываем с представлением о непрерывно осуществляющемся (вследствие взаимодействия встречных воздействий) равнодействующем динамическом состоянии.

Более конкретно вопрос ставится следующим образом: ограничено ли распространение воздействия со стороны мышц только проприоцептивными путями, т. е. должны ли мы рассматривать его только как поток проприоцептивных импульсов или оно осуществляется и в двигательных волокнах, в субстрате которых, таким образом, непрерывно формируется результирующее состояние?

Антидромный характер распространения мышечного воздействия. Полученные данные были достаточно однозначны для следующего вывода: непрерывное воздействие мышц распространяется и по двигательным нервным волокнам в центростремительном направлении. Область распространения воздействия очень велика, так как результирующее состояние захватывает весь нейрон, переходя и на соответственные спинномозговые центры, которые в свою очередь оказывают воздействие на чувствительные волокна.

Производилась односторонняя перерезка передних корешков седалищного нерва лягушки (VIII, IX, X). Через некоторое время испытывалось излучение n. Cutaneus fem. posterior как в состоянии покоя, так и при раздражении кожных рецепторов. Параллельные наблюдения производились на другой, не оперированной конечности (табл. 22).

Таким образом, на оперированной стороне n. Cutaneus не излучает или во всяком случае излучение очень ослаблено. Перерезка двигательных путей в значитель-

ТАБЛИЦА 22

Излучение n. Cutaneus femoris posterior
лягушки

Состояние	Излучение в %	
	после перерезки	на контрольной конечности
В покое	0; 12; 9; —10	**33;** 43; 20; 25
При раздражении кожных рецепторов	10; —2	40; **33;** 25

ной степени нарушает нормальное состояние кожного нерва, т. е. воздействие распространяется именно в антидромном направлении[1].

В связи с этими данными были произведены повторные наблюдения над рефлекторной деятельностью мышц как при нормальном состоянии всей системы седалищного нерва, так и после односторонней перерезки передних корешков. Регистрировались сокращения мышц бедра mm. Semimembranosus и Semitendinosus контралатеральной стороны при раздражении (пощипывании) кожи в области разветвлений n. Gutan. fern. post, на оперированной конечности.

Наиболее ясная и локальная реакция обоих мышц на контрольных экземплярах получалась при свободном свисании обоих конечностей. При сравнимых условиях раздражения опытных экземпляров, производившихся в различное время после операции, наблюдалось, наряду с значительным ослаблением общей рефлекторной деятельности, и резкое изменение в характере реакции. Вместо типичного быстрого подтягивания лапки наблюдалось только более или менее выраженное отведение всей конечности от туловища, сопровождающееся контрактурным напряжением мышц. Функциональные данные, так же как симптом излучения, ясно показывают значение антидромно распространяющегося воздействия со стороны мышц для соответствующей настройки спинномозговых центров.

---

[1] Возможное распространение воздействия по симпатическим путям не уменьшает во всяком случае значения антидромных влияний.

Полученные данные не укладываются, таким образом, в схему односторонней проводимости. Возникает вопрос о том, насколько она вообще удовлетворяет всему разнообразию и всей сложности протекающих в нервной системе процессов.

Гораздо более вероятным представляется другое. В элементах спинномозговой системы — проводящих путях, синаптических участках и нервных клетках — осуществляется непрерывное взаимодействие различных по направлению и по характеру, т. е. антибатных, процессов.

Очевидно, именно это создает динамику спокойного состояния молекулярного субстрата, подчиняющуюся определенным пространственным закономерностям и очень существенную для координации процессов, осуществляющихся при возбужденных состояниях. С этой точки зрения дальнейшая группа экспериментов с применением раздражения может рассматриваться как косвенное, но несомненно важное подтверждение общего представления.

У лягушки под эфирным наркозом вскрывался на протяжении IV и V нижних позвонков спинномозговой канал, так чтобы был доступен подход к корешкам, соответствующим седалищному нерву. Через 2—3 *ч* после вскрытия испытывалось излучение чувствительных корешков при легком раздражении двигательных на той же стороне, в некоторых опытах, наоборот, раздражались чувствительные корешки и исследовалось излучение двигательных.

Раздражения производились повторными легкими притрагиваниями стеклянной палочки. При этом принимались все меры для защиты детектора от непосредственного излучения двигательных корешков в первом случае и от излучения чувствительных во втором.

Полученные результаты ясно показывают, что при раздражении двигательных корешков возникает излучение чувствительных, так же как при раздражении чувствительных возникает излучение двигательных. Преимущественного одностороннего распространения возбужденного состояния, сопровождаемого излучением, не наблюдалось.

Ниже приводятся данные по излучению чувствительных корешков лягушки.

При спокойном состоянии всей спинномозговой системы	10; —8, 0; 6; —8
При раздражении двигательных корешков. . . .	.32; 32; 40; 30; 65; 55

Таким образом, в непрерывном формировании (поддерживании) состояния возбудимости принимают участие все частные системы, входящие в общую систему как в целое, т. е., наряду с центральной нервной системой и рецепторами, какая-то специфическая роль должна быть отведена и эффекторам-мышцам.

Спектральный анализ процессов взаимодействия центров и мышц

Говоря об антибатности воздействий, идущих от центров и от периферии, мы до сих пор не конкретизировали это понятие. При помощи спектрального анализа митогенетического излучения нерва удалось охарактеризовать некоторые стороны этого процесса, именно степень укрупненное™ (или дисперсности) пептидов в проксимальном и дистальном участках седалищного нерва лягушки.

Определение степени дисперсности основывается на возможности относительной оценки количества свободных концевых групп пептидов (NH_2 и OH) по интенсивности их эмиссионных спектров.

Из основного положения о неравновесной молекулярной упорядоченности субстрата нервного волокна вытекает, однако, что представление о взаимной связанности пептидов должно быть шире понятия химической связи, включая и очень слабые межмолекулярные взаимодействия (например, взаимные ориентации молекул). Поэтому опытам с нервами предшествовало изучение модели, близкой по лабильной упорядоченности молекул к неравновесному состоянию субстрата нервного волокна. Наиболее простой моделью такого рода является медленное (несколько метров в *мин)* протекание слабого раствора белка (работа проводилась на яичном альбумине) в узкой трубке, связанное с установлением известной ориентации молекул по направлению течения (рис. 22).

Локальное освещение раствора очень слабым ультрафиолетовым излучением от физического источника вызывает распространение фотохимических цепных процессов по всему объему сопровождающихся ультрафиолетовой хемилюминесценцией митогенетической интенсивности с селективным спектром, отражающим характер флуоресцирующих молекул[1]

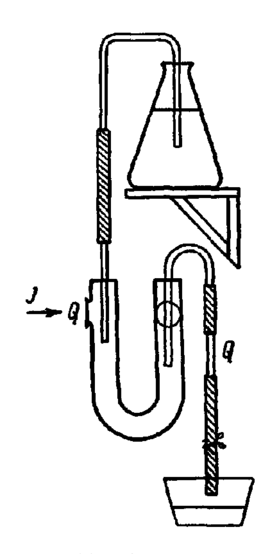


Рис. 22. Схема установки для определения на модели состояния субстрата нервного волокна (А. А. Гурвич, 1960).

Объяснение в тексте.

Интересующие нас спектральные полосы были более интенсивны в неподвижном растворе, чем в текущем. Это указывало на то, что количество свободных концевых групп пептидов во время течения меньше, чем в неподвижном. Другими словами, ориентация белковых цепей по направлению течения приводит уже к некоторому взаимодействию концевых групп (количество свободных групп как бы уменьшается).

Исходя из этих данных, мы могли попытаться применить аналогичный метод исследования к субстрату нервных волокон.

Лягушку располагали перед спектрографом таким образом, чтобы проксимальный или дистальный участок седалищного нерва центрировался по очереди перед входной щелью. Уже при спокойном состоянии нерва наблюдалось ясное различие в интенсивностях спектральных полос между изучаемыми участками нерва. На проксимальном конце интенсивность полос в 2—3 раза превышала высвечивание на дистальном конце (рис. 23), т. е. в дистальном участке нерва количество свободных концевых групп уменьшено по сравнению с проксимальным участком. Таким образом, можно принять, что непрерывное воздействие мышц обуславливает тенденцию к взаимодействию пептидов, т. е. как бы укрупняет их и, что им-

[1] См. главу о спектральном анализе.

пульсы, посылаемые спинномозговыми центрами, противодействуют этому. При возбужденном состоянии (рефлекторное раздражение нерва) разница интенсивностей была выражена еще резче (см. рис. 23).

Эти данные, конкретизируя характер антибатных процессов в нервном субстрате и, вероятно, в субстрате

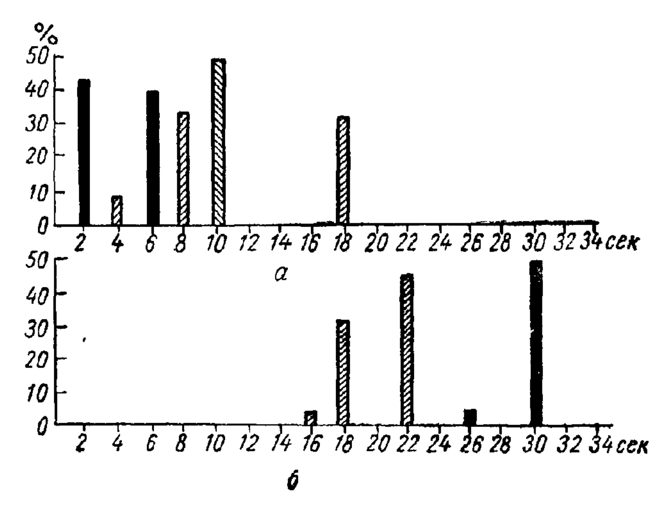


Рис. 23. Распределение интенсивности флуоресценции аминогруппы по длине седалищного нерва (А. А. Гурвич, 1960).

а — изучение спектральных полос, характеризующих аминогруппу на проксимальном конце нерва; *б* — на дистальном конце. Заштрихованные столбики — излучение нерва в состоянии покоя, черные — при возбуждении. По оси абсцисс — экспозиция, по оси ординат — эффект.

мышечных волокон, подчеркивают этим динамичность молекулярной организации, соответствующей состоянию покоя.

РЕГУЛЯЦИЯ СОСТОЯНИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО СУБСТРАТА

Будучи неравновесным, т. е. чрезвычайно лабильным, субстрат несет в себе возможности принципиально неограниченных перестроек. Вместе с тем выраженное взаимодействие функциональных систем, в котором стерические параметры играют очень большую роль, т. е.

непрерывное создание пространственной «организации» субстрата, должно способствовать возникновению известных динамических ограничений, т. е. «нормировке» субстрата, с которой должна быть связана регуляция процессов. При этом очень важно дать себе отчет в том, что. оперируя понятием молекулярного субстрата, мы исходим из статистического множества молекул и характеризуем любое состояние с точки зрения статистических закономерностей, т. е. говорим о его вероятности.

В применении к динамическому характеру субстрата мы должны, очевидно, говорить о том, что данный «тип» или «вариант» процессов взаимодействия возникает чаще, чем другие варианты.

Выше мы подробно описали спектр спокойного излучения икроножной мышцы интактных животных (лягушка, кролик), состоящий из одной широкой полосы в области 2200—2300 Å, т. е. очень ограниченный. При сформулированной нами постановке вопроса он представляет большой интерес, так как предположение о том, что большей ограниченности спектра соответствует и большая однотипность структурной организации субстрата, вполне обоснованно. Другими словами, вопрос о том, не является ли такая динамическая однотипность структурности проявлением сравнительно строгой нормировки, идущей со стороны центров и ограничивающей осуществление разнообразных химических потенций, мог быть в этом случае экспериментально исследован.

Мы знаем уже, что ослабление взаимодействия между спинномозговыми центрами и мышцами приводит к обогащению спектра, т. е. к денормировке субстрата. Возникает вопрос, не повлечет ли это и возникновение полос, характерных для метаболитов, не обнаруживаемых при нормальных условиях.

Несомненный интерес представляет в этом отношении ацетилхолин, спектр излучения которого был заранее изучен на растворе и обнаружен в излучении возбужденной икроножной мышцы лягушки в опытах in vivo (М. А. Липкинд, 1958). Ослабление воздействия центров достигалось уже применявшимся раньше способом — путем их охлаждения, которое, наряду с непосредственным раздражающим действием, оказывает со временем нарастающее тормозящее влияние на фермен-

тативную деятельность ткани, и этим самым и на функциональную активность центров.

На соответствующем участке позвоночника лягушки, освобожденного от покрывающих его мышц, закреплялся плоский кусочек льда из замороженного физиологического раствора. Через 5—8 *мин* начинался спектральный анализ излучения мышцы, внешне совершенно спокойной. Расчленение всей области спектра на широкие области показало, что при обычных для спокойного состояния мышцы экспозициях излучение выявляется не на типичном ограниченном участке (2200—2300 Å), а в виде сравнительно узкой полосы в коротковолновой области и в виде широкой области в длинноволновом участке. Наряду с этим при удлинении экспозиции в 2—3 раза обнаруживались более слабые, но типичные для ацетилхолина узкие спектральные полосы (табл. 23) (А. А. Гурвич, В. Ф. Еремеев, М. А. Липкинд, 1961).

ТАБЛИЦА 23

Спектр излучения икроножной мышцы лягушки во время охлаждения спинномозговых центров

Общий спектр (А)	Время в секундах	Излучение в %	Спектр ацетилхолина	Время в секундах	Излучение в %
1900—1930	8—10	43	1940—45 Å	20—30	0
1930—1960	8—10	0	1945—50 Å	20—30	40
1960—2000	8—10	12	1950—55 Å	20—30	-10
2000—2100	8—10	3			
2100—2200	8—10	—3	2330—35 Å	20—30	6
2200—2300	8—10	—6	2335—40 Å	20—30	39
2300—2400	8—10	2	2340—45 Å	20—30	0
2400—2500	8—10	—8			
2500—2600	8—10	3	2370—75 Å	20—30	3
2600—2700	8—10	12	2375—80 Å	20—30	45
2700—2800	8—10	6	2380—85 А	20—30	6
2800—2900	8—10	1			
2900—3000	8—10	33	2610—20 Å	20—30	0
3000—3100	8—10	20	2620—30 Å	20—30	60
3100—3200	8—10	16	2630—40 Å	20—30	10

Примечание. Приводятся средние результаты 3 опытов.

Параллелизм между общим изменением спектра (в сторону меньшего ограничения) и возникновением спектра ацетилхолина представляет, с нашей точки зрения, большой интерес.

Несомненно, что приведенные немногочисленные данные являются только началом, требующим дальнейшей экспериментальной работы, но они подтверждают представление о том, что в норме регуляция структурно-энергетического состояния молекулярного субстрата строится на принципе ограничения разнообразия химических процессов и этим, в известной мере, определяет характер метаболизма.

ИЗЛУЧЕНИЕ КАК МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ВОЗБУЖДЕННЫХ СОСТОЯНИЙ

Все наше внимание до сих пор было посвящено изучению состояния покоя, т. е. «готовности» субстрата к реагированию на раздражения. Очевидно, что с этой точки зрения возбужденные состояния должны рассматриваться как различного рода перестройки той неравновесной молекулярной организации, на которую они накладываются. Несомненный интерес представляло изучение излучения и поведения мышцы при подпороговом и надпороговом непрямом раздражении (А. А. Гурвич, 1961).

Подпороговое электрическое раздражение седалищного нерва, не вызывающее сокращения икроножной мышцы, не проходило, вместе с тем, в большом числе случаев безрезультатно. Чаще всего во время раздражения наблюдались следующие явления, усиление излучения мышцы по сравнению с состоянием покоя, увеличение степени дисперсности пептидов в мышечной ткани (спектральные данные), в некоторых случаях слабое растяжение мышцы в начале подпорогового раздражения.

После окончания раздражения почти всегда наблюдалось повышение возбудимости мышцы, на которое указывали ее сокращения при подпороговых раздражениях. Несомненный интерес представляет то, что повышения возбудимости не возникало в тех случаях, когда не возникало и усиления излучения во время подпорогового раздражения (табл. 24).

ТАБЛИЦА 24

Изменение состояний мышцы и ее излучения, связанные с подпороговыми раздражениями

Амплитуда раздражений в вольтах		Растяжение мышцы при подпороговом раздражении	Последующее повышение возбудимости	Излучение мышцы в % подпороговом раздражении
надпороговое раздражение	подпороговое раздражение			
0,15	0,12	-	+	34
0.8	0,4	–	+	45
0,4	0,3	–	-	0
0,8	0,7	–	+	25
1Д	0,9	–	+	33
0,2	0,15	–	-	—8
0,8	0,5	+	+	40
1.8	0,5	-	+	• 35
0,2	0,15	–	-	- 4
0,15	0,1	–	—	0
0,12	0,1	+	+	42
2	1,8	+	+	25
0,4	0,2	+	+-	33
0,2	0,15	-	-	- 5
0,2	0,12	—	+	50
0,8	0,5	—	--	—2
0,2	0,1	—	—	2
0,2	0Д5	+	+	32
0,15	0,1	-	+	25
0,2	0,15	—	-	0
0,3	0,2	—	+	45
0,15	0,085	+	+	30
1,1	0,9	-	+	42

Эти разнообразные явления можно мысленно связать, если представить себе, что раздражение подпороговой силы не разрушает неравновесной молекулярной упорядоченности субстрата, но перестраивает ее, вызывая большую дисперсность пептидов и придавая этим бблыпую мобильность субстрату; такое изменение может способствовать наблюдающемуся иногда растяжению мышцы и последующему повышению ее возбудимости.

Раздражение надпороговой интенсивности переводит это промежуточное неравновесное состояние субстрата в более равновесное, связанное с увеличением агрегированности пептидов (спектральный анализ показывает уменьшение свободных концевых групп). С такой

эволюцией спектра гармонирует и то, что сравнительно интенсивная вначале надпорогового раздражения вспышка излучения быстро затухает. Увеличение степени агрегированности может служить началом тех процессов, которые приводят к макропроявлению, — сокращению мышцы (табл. 25).

ТАБЛИЦА 25

Интенсивность излучения мышц в различные промежутки времени после начала раздражения нерва

Раздражение	Экспозиция	Излучение в %
Подпороговые	3 *сек* с начала раздражения	3; 23, 10, 30; —3, 40; 0; 40; 10
	3 *сек* в интервале 3—7 *сек* от начала раздражения	42; 33, 45; 40; 50
	3 *сек* в интервале 7—11 *сек* от начала раздражения	35
Надпороговые	3 *сек* от начала раздражения	—0; —5; 8; 3; 35
	3 *сек* в интервале 3—7 *сек* с начала раздражения	12; —9; 0
	5 *сек* от начала раздражения	43; 53; 37; 30; 44; 49
	5 *сек* в интервале 3—8 *сек* от начала раздражения	30; 20
	5 *сек* в интервале 5—10 *сек* от начала раздражения	—10; 3

Таковы общие представления, которые можно развить на основе экспериментальных данных. Возвращение к исходному состоянию покоя можно также представить исходя из принципа антибатности процессов. Но сейчас наше основное внимание будет посвящено тем фактам, которые указывают на разнообразие состояний субстрата, реагирующего на специфические раздражения.

Мы остановимся на этом вопросе несколько подробнее, так как он принципиально важен. Очевидно, что перестройки чрезвычайно лабильного неравновесного

субстрата могут быть безгранично разнообразны. Вместе с тем, придавая главное значение состоянию покоя (готовности к возбуждению), т. е. перенося центр тяжести на субстрат, мы должны допустить, что характер раздражений должен определять только исходный характер цепного процесса. По мере распространения процесс под действием свойственных субстрату закономерностей постепенно трансформируется в своих пространственных параметрах, сохраняя вместе с тем свою специфику в виде исходной слагаемой, накладывающей на перестройки свой отпечаток.

Именно в таком характере процессов мы видим проявление той динамической регуляции (нормировки) состояний, о которой говорили выше. С этой точки зрения мы рассматриваем результаты спектрального анализа возбужденных состояний, показывающих разнообразие спектров.

Наибольшее количество данных получено на нервно-мышечных препаратах лягушки (с сохранением участка спинного мозга). Менее многочисленны результаты на спинальных и интактных лягушках. Данные спектрального анализа излучения зрительного нерва и мозговой коры будут изложены отдельно.

Спектры излучения возбужденных нервов

Результаты применения различных раздражений седалищного нерва как искусственных — фарадизация, механическое раздражение, травма (перерезка) (Г. С. Календаров, 1932), так и физиологических — проприоцеп* тивное раздражение — растяжение икроножной мышцы небольшой нагрузкой (Л. Д. Гурвич, 1934) и рефлекторных — фарадизация противоположного седалищного нерва (И. В. Цоглина, 1934) показали, что спектры отличаются друг от друга в зависимости от характера раздражения, оставаясь в то же время строго постоянными при каждом из них (рис. 24).

Таким образом, симптомы состояний субстрата нерва при его различных состояний качественно различны, т. е. и состояния, вызываемые различными раздражителями, различны. Другими словами, состояние готовности нерва реализуется в различные формы проявлений (возбуждений), которые могут и не привести

к наблюдаемым реакциям, но констатирование которых не теряет из-за этого своего принципиального значения.

Мы должны, следовательно, говорить о нервных возбуждениях во множественном числе. Особенно демонстративны в этом отношении опыты, проведенные Г. Н. Беловым (1938) на чувствительных нервах спинальной лягушки, иннервирующих кожу спины. Излу-

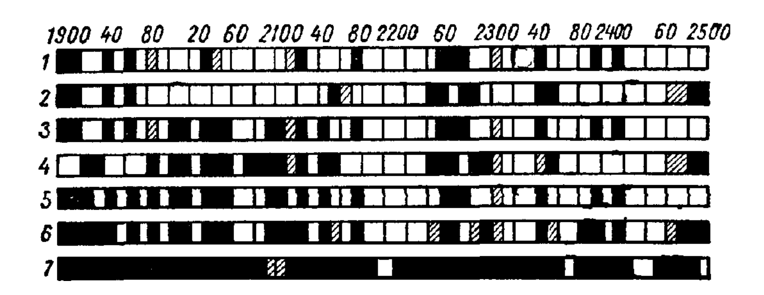


Рис. 24. Спектры излучения седалищного нерва лягушки (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

1-*в* состоянии покоя; 2 — при механическом раздражении (место раздражения); 3 — на расстоянии 2 *см* от места раздражения; *4* — при электризации (участок между электродами); *5* — на расстоянии *2 см* от электродов; 6 — после перерезки нерва (на расстоянии 2 *см* от места перерезки); *7* — при рефлекторном раздражении (более слабые полосы заштрихованы).

чение нерва при раздражении соответствующего участка кожи слабой кислотой содержало спектр другого характера, чем при раздражении этого же участка слабой щелочью.

Предположение об излучении двух независимых групп волокон (одной, возбуждаемой щелочью, а другой — воздействием кислоты) является чрезвычайно мало вероятным. Наоборот, гораздо вероятнее, что различие спектров обуславливается тем, что при применении различных раздражителей субстрат возбуждения одних и тех же нервных волокон претерпевает различные перестройки. Этот вывод получил подтверждение в серии экспериментов (Н. М. Шамарина, 1934). Вертикальные электроды прижимались к поверхности седалищного нерва, обращенной к входной щели спектрографа (это являлось обязательным условием данных опытов). Таким образом, можно было быть уверенным,

что и при слабом раздражении поверхностные нервные волокна будут во всяком случае затронуты воздействием.

Выяснилось, что при слабом (подпороговом относительно мышцы) раздражении спектр излучения несколько богаче, чем при надпороговой интенсивности[1]. Именно этот факт при данной постановке опыта был очень важным, так как он с большой степенью вероятности показывал, что в одной и той же группе волокон возникают при изменении силы раздражения различные состояния субстрата.

С этими хронологически более ранними данными совпадают приведенные выше результаты, характеризующие изменения субстрата мышечного волокна, возникающие при подпороговом раздражении нерва. Таким образом, весь спектральный материал, показывая на возникновение качественно различных состояний субстрата, со всей определенностью говорит против закона «все или ничего».

Дальнейшие эксперименты показали, что, во всяком случае для нерва, на нервно-мышечном препарате специфична известная закономерность в распределении интенсивности излучения по его длине. Наблюдалась периодичность в распределении максимумов и минимумов излучения, выраженная особенно ясно при выделении отдельных спектральных слагаемых излучения, например гликолитической слагаемой, т. е. хемилюминесценции глюкозы, пептидной слагаемой — хемилюминесценции пептидов и т. д. Такая химическая характеристика спектра излучения нерва невозможная, как мы знаем, при работе с нервами и мышцами интактного организма, где спектральные полосы большей частью расширены, показывает, конечно, на отклонение субстрата от физиологического состояния, но она представляет вместе с тем интерес как показатель зависимости состояния субстрата от характера раздражений. Применение к седалищному нерву проприоцептивного раздражения (вытяжение мышцы), рефлекторного (фарадизация контралатерального нерва) и непосредственной фарадизации опытного нерва показало, что каждое из раздражений сопровождается специфичным для него распределением интенсивности излучения.

---

[1] Изучался не весь спектральный **диапазон, а** только коротковолновая область

Являются ли широкие спектральные полосы характерными также и для возбужденных состояний нервов и мышц интактного организма, сказать пока трудно, так как этот вопрос по настоящему еще не изучен. В пользу этого говорят данные И. В. Цоглиной (1934), показавшей, что рефлекторное возбуждение седалищного нерва лягушки связано с высвечиванием очень широких спектральных областей.

Возможность выделения узких полос, характерных для концевых групп пептидов при подпороговых и надпороговых непрямых раздражениях мышцы, не исключает наличия широких полос в других областях ее спектра. Выяснение степени молекулярной упорядоченности и наличия общих энергетических уровней в реагирующем на раздражение субстрате представляет, с нашей точки зрения, принципиальный интерес.

Связь данных электрофизиологии и метода излучения. Функциональные состояния (их смена) однозначно связаны с молекулярными явлениями (беря это понятие в самой общей форме).

Интерес электрофизиологов, ограниченный, может быть, возможностями метода, концентрируется на изучении электрохимических явлений, происходящих на разделах фаз, образуемых поверхностями нервных клеток и волокон (мембранный потенциал) и внутриклеточными структурными включениями. Интерес митогенетиков сосредоточен на изучении пространственных молекулярных перестроек, отражающих разнообразие динамики всего субстрата (т. е. субстрата, составляющего «содержимое» нервных элементов и, как это будет видно при анализе излучения мозговой коры, субстрата, в который нервные элементы как бы погружены) и сигнализирующих о взаимодействии отдаленных систем.

Это принципиальное различие в подходах ни в коей мере не устраняет желательность и необходимость сопоставления данных и параллельного изучения в тех случаях, где это возможно, одних и тех же явлений обоими методами.

Подробно рассматривая вопрос о неравновесно-упорядоченном состоянии молекулярного субстрата, мы этим самым косвенно говорили и о поле. Понятие актуального поля может быть, как мы знаем из основных представлений концепции поля, отнесено к любым кле-

точным или ядерным скоплениям с каким-то средним или тем более высоким уровнем метаболизма.

С этой точки зрения большой интерес представляют области нервно-мышечных связей, так как и проприоцептивные веретена и особенно двигательные пластинки являются своеобразными синцитиями. Скопления тесно расположенных ядер в однородной протоплазменной территории выражены особенно ясно у последних.

Понятие актуальных полей может быть тем более отнесено к спинномозговым центрам с их большими скоплениями моторных клеток и интернейронов. Таким образом, спинномозговые центры и двигательные пластинки можно рассматривать как своеобразные центры распространения молекулярной упорядоченности, т. е. «пространственной настройки» молекулярного субстрата в нервных и мышечных волокнах. Значительно более редкое распределение ядер в мышечных волокнах и тем более в нервных, где речь идет об одном Шванновском ядре на сегмент Ранвье, не дает основания говорить о возникновении актуальных полей. Гораздо вероятнее, что ясно выраженная молекулярная упорядоченность в средней части сегмента, находящейся в сфере действия ядра, становится менее выраженной в удаленных частях сегмента, сохраняя, однако, упорядоченность все же в той степени, которая делает возможным распространение по длине волокна цепных процессов.

Если принять, что поле каждого сегмента Ранвье создается и поддерживается шванновским ядром, то при постоянстве топографического расцределения ядер нужно принять, что поле тоже постоянно и, следовательно, что характер общего поля для всего нервного волокна, с периодически повторяющимися декрементами, тоже постоянен. Другими словами, конфигурации неравновесных молекулярных констелляций при отсутствии внешних раздражений должны быть более или менее неизменными. При раздражениях рецепторов на эту упорядоченность как бы накладывается цепной процесс, берущий начало в клетках рецепторов и выражающийся в перестройках неравновесных констелляций.

Рассмотрим вопрос о степени постоянства актуального поля в двигательных пластинках и спинномозговых центрах. Нет никаких оснований принимать колебания (флуктуации) метаболизма (в смысле его уровня и

разнообразия процессов) для области двигательных пластинок, когда данная функциональная система находится в состоянии более или менее постоянного тонуса. Выделение микроколичеств медиаторов идет тоже, по-видимому, в более или менее постоянном режиме.

Другими словами, интенсивность и характер соответствующих актуальных полей находятся в более или менее постоянном состоянии динамического равновесия, обуславливая этим возникновение и распространение с известным градиентом более или менее однородных цепных пространственных процессов, т. е. формирование молекулярной упорядоченности одного типа. Описанные выше данные спектрального анализа, указывающие на го, что в дистальной части седалищного нерва преобладает тенденция к полимеризационным процессам, т. е. преполимерное состояние, гармонирует с приведенными здесь соображениями.

Вместе с тем, вполне обоснованно представление о том, что клеточным скоплениям в спинномозговых центрах свойствен другой энергетический и молекулярный режим. Непрерывное подпороговое поступление воздействий со стороны рецепторов, составляющее тот режим, который характеризуется как тоническое состояние, должен обуславливать флуктуирующий характер метаболизма в структурных элементах центров. Интенсивность и общая структура актуальных полей должны иметь переменный характер. Легко представить, что следствием этого должны быть постоянные нарушения возникающих цепных пространственных процессов, т. е. флуктуации в наведении молекулярной упорядоченности. Преобладание дисперсного состояния белкового субстрата в проксимальной части нерва, показанное спектральным путем, соответствует этим представлениям. Еще больший вес придают им очень интересные данные Л. Д. Гурвич (1922), показавшей на моторных нейронах лягушки, что нормальному функциональному состоянию соответствует различная морфологическая картина различных клеток.

Для большинства клеток характерно небольшое ядро и компактный пучок фибрилл, проходящий сбоку от ядра из одного дендрита в другой, но наряду с этим достаточно часто встречаются увеличенные клетки с увеличившимся и округлившимся ядром и диффузным рас-

пределением фибрилл, занимающим почти все тело клетки. По типу своих изменений они близки к тем, которые автор наблюдал при стрихнизации животных. Один из выводов заключается в том, что для деятельности нервных клеток при нормальном физиологическом состоянии спинномозговой системы характерна определенная цикличность Можно легко представить, что периодичность или, во всяком случае, неравномерность процессов, идущих на молекулярном уровне, происходит чаще и распространяется на большие объемы, чем это отражает морфологический коррелят.

АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНОГО СУБСТРАТА КОРЫ МОЗГА

В первой части рассматривалось представление о динамике субстрата периферической нервной системы и мышц в состоянии покоя, т. е. состоянии готовности к реактивным отклонениям, так как покой рассматривается нами как активное состояние, участвующее в формировании возбужденных состояний.

В еще большей степени представление об активной роли неравновесной молекулярной упорядоченности должно быть отнесено к мозговой коре не только из-за динамики ее состояний, сочетающейся вместе с тем с проявлениями гистерезиса (понятие покоя является при этом в значительной степени условным), но из-за того значения, которое он может иметь для понимания цитоархитектоники коры.

Мы попытаемся рассмотреть этот вопрос возможно шире, т. е. наряду с экспериментальным обоснованием, связанным с излучением мозговой коры и зрительного нерва, привлечем те общебиологические представления А. Г. Гурвича, в которых рассматривается применение принципа эквипотенциальности к нервным элементам и понятие мозгового континуума, т. е. актуального поля мозговой коры (А. Г. Гурвич, 1929, 1930, 1944). Надо отметить, что поиски аналогичных подходов все чаще встречаются в современной литературе, отдельные выдержки из которой будут приведены.

Обдумывая возможности общего подхода к анализу морфологических и физиологических проблем и рассматривая с этой точки зрения возникновение зрительных

образов, А. Г. Гурвич писал: «Наши зрительные образы, наряду с абсолютно обратимыми, однозначно связанными с содержанием зрительных полей впечатлениями, содержат и необратимые слагаемые, часть которых во всяком случае не только не является однозначной функцией от внешних полей зрения, но и не совпадает с ними по содержанию. Обучение, проторение, память относятся к категории необратимых явлений. Существуют геометрические конфигурации, не адекватные для органа зрения, в таких случаях они заменяются другими, искаженными (геометрически — оптические обманы зрения)».

«Наряду с этим, из простых рассуждений вытекает, что гистерезис, свойственный нашим зрительным восприятиям, не связан с теми инстанциями зрительного аппарата, которые обуславливают возникновение элементарных ощущений. Например, очевидно, что простейший случай гистерезиса — узнавание зрительного образа при его вторичном появлении происходит и тогда, когда в обоих случаях картина захватывает различные элементы зрительного эпителия (например, последовательное восприятие двух подобных треугольников различной величины).

Мы должны таким образом принять, что гистерезис может быть обусловлен в этом случае, как и в бесчисленном множестве других, только той инстанцией, которая является в какой-то степени автономной относительно аппаратов, связанных с элементарными возбуждениями, т. е. соответствующих нейронов.

Мы можем охарактеризовать эту инстанцию как «континуум», т. е. как тот основной субстрат, в который как бы «погружены» морфологически определимые элементы: клетки, волокна. Другими словами, мы не отождествляем его с нейропилем» (А. Г. Гурвич, 1929).

Понятие неравновесной молекулярной упорядоченности не только гармонирует с понятием континуума, но делает доступным его экспериментальное изучение. Значительную роль сыграло при этом изучение митогенетического излучения коры при зрительном раздражении. Можно выделить две группы результатов: во-первых, изложенные уже коротко в начале этой главы данные, показывающие, что локализованное и неглубокое поранение поверхности мозговых полушарий лягушки при-

водит к далеко идущим последствиям при одновременном освещении глаз. Возникающий при этих условиях митогенетический шок, т. е. временная потеря способности к излучению, захватывает не только полушарие целиком, но распространяется на всю зрительную систему, насколько об этом можно судить по хиазме зрительного нерва. Наиболее правдоподобное объяснение заключается в том, что зрительное возбуждение объединяет всю зрительную систему в одно общее функциональное целое.

Подтверждение и некоторый анализ этого вывода стали возможными на основании второй группы фактов. Были сопоставлены результаты, полученные при изучении излучения коры нормальных кроликов и кроликов, находящихся в состоянии экспериментально вызванной каталепсии (внутривенное введение небольших доз гистамина) (С. Н. Брайнес, 1934, 1937), т. е. значительном отклонении нервных центров от нормы. У обоих групп животных излучение изучалось при различных функциональных состояниях и при охлаждении коры.

Полученные данные позволяют выделить два типа состояний континуума:

1) при возможном выключении внешних раздражителей, но при непрерывной, по-видимому, смене разнообразных состояний внутреннего происхождения континуум нужно рассматривать как совокупность различных неравновесных молекулярных констелляций. Тот же характер континуума сохраняется и при применении тактильных или болевых раздражений (слабой электризации кожи). Ближе всего такое состояние можно обозначить термином «потенциальный» континуум;

2) при световом и звуковом возбуждениях, т. е. адекватных раздражениях сложных и совершенных рецепторов состояние молекулярного континуума коры изменяется. Констелляции объединяются общими энергетическими уровнями на больших протяжениях. Схематически говоря, происходит нечто вроде возникновения очень обширного трехмерного неравновесного молекулярного ансамбля. Континуум такого характера назовем «актуальным».

Говоря об объединении континуума в одно целое, мы широко используем представление о непрерывности молекулярного субстрата, не ограниченной разделами, обусловленными поверхностями клетки или волокна. С точки зрения концепции поля это является

вполне естественным, мы помним, что сфера действия клеточного поля выходит за границы клетки. Именно путем геометрического сложения клеточных векторов создается актуальное поле совокупности клеток.

Само собой разумеется, что представления о континуумах обоих типов сохраняют чисто динамический характер, т. е. речь идет о поддержании, непрерывном воспроизведении пространственных неравновесных молекулярных структур или молекулярной архитектуры.

Экспериментальные результаты, обосновывающие эти представления, заключаются в следующем. При спокойном состоянии, т. е. возможном выключении внешних раздражений, характерными являются довольно большая длительность деградационного излучения, достигающая при продолжающемся охлаждении до 6—8° 10—15 *мин,* и изменение спектра деградационного излучения во времени.

Тот же характер деградационного излучения обнаруживается и при охлаждении коры кроликов, находящихся в состоянии каталепсии. Более детальное сравнение этих двух состояний, при котором могли бы выявиться некоторые различия, пока еще не сделано.

Таким образом, несмотря на несомненное различие функциональных состояний коры у нормальных и каталептических кроликов, для них свойственно и очень существенное общее: констелляции молекулярного континуума сравнительно мало ограничены в своих параметрах, степени свобод в распределении энергетических состояний, а следовательно, и конфигураций констелляций, сравнительно велики, т. е. констелляции не объединены в одно энергетическое целое. Именно как следствие постепенности нарушений различных констелляций можно объяснить и длительность деградационного излучения и изменения спектров во времени.

Эти результаты подтверждают прежние данные о том, что физиологическое излучение коры (при устранении раздражений) нужно рассматривать как проявление непрерывных нарушений отдельных, качественно различных, неравновесных молекулярных ансамблей, возникновение которых является выражением непрерывной смены состояний внутреннего происхождения.

Дальнейшие опыты с применением болевых и тактильных раздражений расширили это представление.

Выяснилось, что раздражения, усиливая у нормальных и каталептических кроликов и спонтанное излучение коры, и деградационное излучение (при одновременном с раздражением охлаждении коры), не изменяют вместе с тем длительности излучения. Она достигала при одновременном раздражении и охлаждении тоже 10—12 *мин.* Таким образом, при большем числе нарушений констелляций в единицу времени (что вызывает усиление излучения), т. е. при большей частоте формирования констелляций, общим с состоянием покоя остается энергетическое и конфигурационное разнообразие констелляций. Вместе с тем, нужно, очевидно, допустить, что какая-то специфика конфигураций отражает состояние возбуждения, вызванного раздражением кожных рецепторов.

Другими словами, континуум при этих раздражениях представляет также совокупность отдельных неравновесных молекулярных систем, т. е. соответствует термину «потенциальный».

Другая и, по-видимому, принципиально отличная картина выясняется при сопоставлении ряда данных, в которые входят и результаты, получаемые при зрительном и звуковом раздражениях. Кора нормальных кроликов реагирует на световое и звуковое раздражение усилением излучения. Освещение глаз у каталептических кроликов не приводит к усилению излучения.

Вторичное излучение[1] распространяется при световом возбуждении на большие протяжения в коре нормальных кроликов и быстро затухает при этих же условиях в коре каталептических кроликов. Этот факт ясно указывает, что в то время как в норме световое возбуждение способствует распространению цепных процессов, при каталепсии возникают условия, препятствующие их распространению.

Наряду с этим, различие результатов наблюдается у нормальных и каталептических кроликов при совмещении светового возбуждения коры и охлаждения ее поверхности. Излучение коры нормального кролика при этих условиях резко снижается, излучение коры каталептических кроликов держится приблизительно на том

[1] Локальное митогенетическое облучение небольшого участка коры приводит к распространению излучения на большую поверхность. Это явление можно рассматривать только как распространение цепных процессов, связанных с высвечиванием энергии.

же уровне, как при охлаждении мозговой поверхности без светового возбуждения.

Сопоставление всех этих данных приводит нас к тому представлению, которое раньше было высказано в виде предположения. Адекватные раздражения у нормальных животных таких сложных рецепторов, как зрительный и звуковой, приводят молекулярный субстрат коры (специфических зон, а может быть и более обширных областей) к сдвигу динамического равновесия в сторону образования протяженной системы общих энергетических уровней. С этой точки зрения становится вполне понятным хорошее проведение вторичного излучения при световом возбуждении коры.

Потерю способности к излучению при одновременном световом возбуждении и охлаждении коры правдоподобнее всего объяснить тем, что деградация протяженных неравновесных систем приводит не к их распаду, т. е. возникновению флуоресцентов, а напротив, сдвигает равновесие в сторону образования еще большего объединения и несколько большей равновесности молекулярных систем, способность к флуоресценции которых понижена.

Другими словами, выражение возбуждения коры при зрительном (и, по-видимому, при звуковом) раздражении мы видим именно в возникновении «актуального» молекулярного континуума. Причем нам представляется очень вероятным, что акт энергетического объединения констелляций, приводящий к возникновению определенной молекулярной архитектуры, является специфической, т. е. ответственной за возникновение данного зрительного ощущения, фазой.

С этой точки зрения проявление состояния каталепсии можно видеть в «блокировании» молекулярного континуума на отдельные области, препятствующем возникновению общей системы энергетических уровней и, вследствие этого предположить, что зрительные восприятия животных при экспериментальной каталепсии сравнительно элементарны.

Говоря о возникновении актуального континуума мозговой коры при световом возбуждении, мы связываем представление о нем с разнообразием стерических параметров, которые должны находиться в какой-то функциональной зависимости от характера световых раздражений.

Конкретные результаты дает в этом отношении спектральный анализ (А. А. Гурвич, 1934). На интактных лягушках и на отрезанной голове лягушки (в течение первого часа после декапитации) были изучены спектры излучения полушарий, зрительных долей и зрительного нерва (в области перекреста) при довольно ярком панхроматическом освещении глаз.

Спектры этих трех областей значительно отличаются друг от друга (рис. 25). Наряду с этим сравнивались спектры полушарий при освещении глаз различными цветными полями зрения. Несмотря на сравнение только отдельных спектральных областей, специфиче-

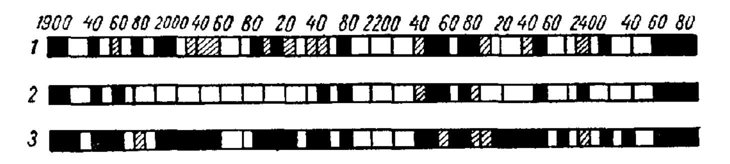


Рис. 25. Спектры излучения возбужденной зрительной системы лягушки (освещение глаз) (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).
1—полушария; 2—зрительные доли; *3*—зрительный нерв (область перекреста).

ская зависимость спектров от данного монохроматического освещения выражена ясно.

Значительно большее разнообразие данных было получено при помощи метода, применявшегося уже к периферическим нервам и основанного на изучении распределения интенсивности излучения мозговой поверхности лягушки и кролика. Отчетливые результаты получались при выделении с помощью специального приспособления какой-нибудь слагаемой из общего, несомненно богатого и должно быть широкополосного спектра, например флуоресценции пептидов или глюкозы.

При проецировании на роговицу глаза полей зрения, состоящих из различных комбинаций освещенных и затемненных частей, были зарегистрированы как различия, так и совпадения кривых распределения интенсивности (А. А. Гурвич, 1938). Освещение верхней половины глаза и затемнение нижней и обратно, затемнение верхней и освещение нижней давали кривые излучения одинакового характера. Замена поля зрения, содержащего темный зигзаг на светлом фоне, полем со светлым

зигзагом на темном фоне приводила к изменению кривых излучения. Замена же темного квадрата на светлом фоне темным кругом на светлом фоне не отражалась на кривых. В ряде опытов было замечено, что скользящий перед глазом лягушки темный рисунок на светлом фоне не изменял кривой излучения по сравнению с исходной кривой, соответствующей светлому полю зрения, в то время как такой же неподвижный рисунок изменял характер кривой (рис. 26).

Эти немногочисленные и поэтому ориентировочные данные интересны тем, что, показывая на разнообразие параметров излучения как симптома возбужденных состояний, они вместе с тем указывают и на определенную автономность мозговой коры, в смысле «неподатливости» относительно некоторых раздражений.

Мы возвращаемся, таким образом, снова к представлению о континууме и попытаемся в связи с этим изложить возможно яснее те представления А. Г. Гурвича, в которых общее понятие молекулярного континуума синтезируется с представлениями, развивающимися на клеточном уровне, т. е. связывается с понятием актуального поля мозговой коры.

«В нашей попытке анализа мозговой коры мы будем исходить не из ее элементаризирующего расчленения, но, наоборот, из выделения основных данных, характеризующих ее как целое.

Одним из основных фактов является то, что число клеток в участке коры, соответствующее, например, данному рецептору, значительно больше числа нервных волокон, связывающих их с элементами рецептора. Чрезвычайное богатство и густота разветвлений делают, с одной стороны, неизбежным заключение, что все клетки оплетаются афферентными волокнами, но исключают, с другой стороны, всякую вероятность изолированной, т. е. нарочитой, связи между одним определенным волокном и определенной группой клеток. Не имеет поэтому смысла говорить о функции клетки коры, взятой в отдельности, т. е. в противоположность клеткам спинного мозга и может быть низших центров, клетки коры нельзя назвать функциональными единицами и принять простую аддитивность их функционирования.

Замечательна также архитектурность мозговой коры — закономерное пространственное распределение и

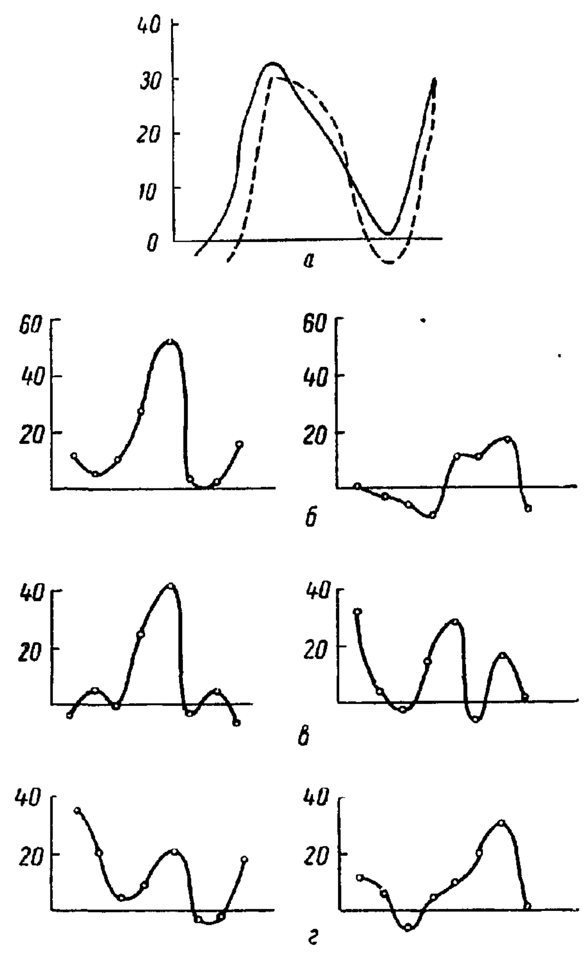


Рис. 26. Распределение интенсивности излучения мозговой коры кролика при различных зрительных восприятиях (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

а — освещение верхней половины глаза (сплошная линия) и нижней половины (пунктирная); *б* — светлое поле зрения; *в* — подвижная линия на светлом поле (слева), неподвижная линия на светлом поле (справа); *г* — неподвижная линия на светлом поле (слева), подвижная линия (справа). По оси ординат — эффект в процентах.

ориентировка входящих в ее состав клеток. Такая архитектурность является прерогативой лишь коры полушарий и мозжечка. Этот факт делает логически неизбежным вывод о существовании между клетками, взаимоотношений, охарактеризованных пространственными (геометрическими) параметрами. При этом наблюдается типичное своеобразие конфигураций различных категорий клеток коры и максимальное развитие их поверхности в виде отростков, также охарактеризованных определенными для каждой категории параметрами. Богатство разветвлений относится в равной мере и к приходящим в мозговую кору из низших центров нервным окончаниям. Необходимо при этом отдать себе отчет в том, что весь характер разветлений нервных клеток лишь типичен для каждой из них, но флуктуирует в очень широких пределах, подобно тому как лишь типична ветвистость деревьев». Другими словами, характер разветвлений нормирован[1].

«Наличие хроматина, помимо ядра, и в цитоплазме самого тела клетки и в ее разветвлениях (дендритах) позволяет дать клеткам, с точки зрения поля, следующую характеристику: а) каждая нервная клетка является источником поля и притом, по-видимому, интенсивным (энергичный метаболизм хроматина); б) геометрические параметры собственного поля каждой клетки являются функцией от ее конфигурации, включая в это понятие и отростки (поскольку они содержат хроматин)

Конструкция актуального поля (в своей самой общей форме) исходит, как известно, из того, что сфера действия клеточного поля выходит за пределы клетки и, что следовательно, хотя вектор поля и убывает в какой-то обратной зависимости от расстояния, в любой точке кле-

---

[1] Принцип нормировки, как уже говорилось, органически связан с статистическим подходом.

В связи с этим интересно привести взгляды Sholl (1956). Считая невозможным в настоящее время создание общей удовлетворяющей модели организации коры, он говорит- «Тем не менее, мы все употребляем модели и в связи с этим новый язык, язык статистики, основывающийся на вероятностных концепциях, должен быть предложен». «Предполагается, что необходимость статистического подхода к изучению коры обуславливается не только шириной и сложностью экспериментальных наблюдений, но что она связана с самой природой организации коры, системы, которая может быть описана только в понятиях теории вероятности».

точного комплекса существует поле, вектор которого определяется полями всех входящих в состав комплекса клеток. Он обозначается как вектор макрополя. Архитектура макрополя определяется рядом параметров — числом клеток, их пространственным распределением и характером их собственных полей. Строгая архитектоника мозговой коры — однородность строения и конфигураций преобладающих в данной области коры элементов (пирамидные клетки), протяженность их распространения и, особенно, строго параллельная ориентировка их осей — приобретает поэтому глубокий смысл. Однако вследствие особенностей отдельных цитоархитектонических участков коры рационально относить понятие макрополя к этим отдельным участкам. Но, вместе с тем, и в этом и заключается ценность полевой концепции, вполне реально представление об общем поле мозговой коры: моментальное состояние его любого участка отражается и на состоянии отдаленных областей»[1].

Широкое распространение цитохроматина в дендритах и богатстве их разветвлений, т. е. большая эффективность актуального поля, позволяет говорить о значительной степени векторизации молекулярных процессов в структурных элементах коры и вне их. Другими словами, молекулярный субстрат коры выраженно неравновесен и мы помним, по данным митогенетического анализа, как легко совершается переход потенциального континуума в состояние актуального, в котором понятие неравновесности относится к большим областям коры.

Приведем некоторые выдержки из физиологической литературы, указывающие на аналогию в подходах к анализу функционирования нервных центров и мозговой коры как целого.

«... Надо смело признать, — говорит П. К. Анохин (1935), — что нервная система осуществляет свою интегративную деятельность не только по структурным, но и по специфически-функциональным принципам, которые у формирующейся нервной системы имеют превалирующее значение. Этим и обуславливается то динамическое единство специфичности и целостности, с которыми мы встречаемся при изучении нервной деятельности у взрослого животного».

---

[1] Из неопубликованных трудов А. Г. Гурвича.

Близкие представления мы находим у Lashley (1954), исследования которого характерны шириной и большой глубиной... «Все нейроны коры, — говорит он, — находятся в постоянной активности и их интеграция осуществляется сложными путями взаимодействия, а не по принципу относительно изолированных путей».

Потребность в обращении к молекулярным представлениям высказывается Fessard (1954), он пишет: «...возбудимость, это основное свойство живой материи, которым нервные структуры обладают в наиболее высокой степени, была долго известна только по функциональным проявлениям. Сейчас можно ждать, что она будет выражена на уровне молекулярных структур и сил».

Таким образом, несомненно, что представление о целостном характере возбуждения коры все сильнее звучит в современной физиологии и поэтому особенно важно еще раз подчеркнуть специфику понятия актуального поля. В самой конструкции актуального поля целостное, нерасчленимое уже дано. «Вместо создания целостного переживания путем объединения дискретных элементов (в функциональном смысле слова) возникающее целостное переживание соответствует определенной модификации уже существующего целостного под влиянием дискретных воздействий»[1].

Мы хотели бы коротко остановиться еще на двух важных сторонах развиваемых представлений.

«Очевидно, что переход неравновесных молекулярных констелляций в более равновесные структуры вполне вероятен и с этой точки зрения понимание того, как возникают «следы» («вестигии») зрительных восприятий, не представляет затруднений. Вестигии не являются специфическими обособленными веществами, но лишь стерическими модификациями каких-то основных для субстрата химических элементов.

Вместе с тем, принцип целостности, неотделимый от представления об актуальном поле коры, дает нам понимание некоторых трудно объяснимых фактов из области зрительного узнавания. С точки зрения актуального поля все клетки принимают всегда участие в создании его моментального состояния, независимо от того, что им-

[1] Цитируются отдельные положения из неопубликованных трудов А. Г. Гурвича.

пульсы, исходящие от рецепторов, задевают непосредственно лишь те или иные группы клеток».

«Из этого еще не вытекает невозможность локализации вестигий в каких-нибудь категориях клеток. Исключается лишь, и это наиболее существенно, распределение различных вестигий по различным клеткам. Этот вывод соответствует, например, тому, что возможно узнавание буквы значительно большей по размеру чем первая».

«Очевидно, что с точки зрения процесса воспроизведения стерических модификаций каких-то химических элементов субстрата легко понять часто даже как бы спонтанное повторное возникновение зрительного образа после длительного латентного состояния. Для этого нужно допустить, например, что вместо одной разрушенной или элиминированной каким-нибудь образом единицы возникает не одна, а больше».

Близкие по общему характеру, но вместе с тем выраженно химические представления высказывает Fessard (1954). «...Трудно представить, чтобы характер процессов, связанных с «переживанием», был бы другим, чем тот, который принимается для объяснения явлений памяти, т. е. речь должна идти о более или менее длительных модификациях, кладущих как бы свой отпечаток на пластические ультраструктуры нейрона. Химические специфики различных нейронов могут играть при этом решающую роль и нужно помнить, что такая специфичность является свойством макромолекул с их выраженной пластичностью и гистеризисом.

Они способны к бесконечному разнообразию метастабильных состояний и они могут обладать также способностью к самовоспроизведению (аутосинтезирующиеся молекулы)».

Мы видим, как ясно в последней формулировке высказывается потребность в принципе аутокатализа, сформулированного впервые в такой форме А. Г. Гурвичем и экспериментально показанного митогенетическим и микрохимическими методами (А. Г. Гурвич, 1939, 1945).

Вернемся теперь в связи с сказанным к вопросу о разнообразии состояний возбуждения нервных элементов. Мы говорили уже об этом, рассматривая зависимость характера спектра излучения от характера раздражения, наблюдаемую на периферических нервах, на

зрительном нерве и на коре. Представление об актуальном поле коры и молекулярном континууме, органически связанное с понятием целостности, ставит этот вопрос снова со всей силой.

Это с ясностью вытекает, например, из представления о целостном характере возбуждения больших областей коры, при котором не имеет смысла говорить о функции клетки коры, взятой в отдельности, множественность состояний ее возбуждений при этом неизбежна.

Еще яснее представление о множественности возбуждений нервных элементов было сформулировано А. Г. Гурвичем на основании анализа возникновения зрительного ощущения (1929, 1930).

«Если бы мы ограничились рассмотрением только центральной ямки сетчатки, в которой каждой колбочке соответствует биполярная и ганглионарная клетки и, следовательно, отдельные волокна зрительного нерва, то мы не могли бы говорить о многообразии возбуждений зрительного волокна. Но совершенно иную проблему представляет процесс проведения, если мы вспомним, что на долю одной ганглионарной клетки, т. е. одного волокна зрительного нерва в прилегающих к центральной ямке областях сетчатки, приходится район по крайней мере в тысячу палочек и соответственно участок зрительного поля, равный на расстоянии 1 *м* приблизительно 10 *мм*^{2}. Очевидно, что содержание такого участка может все время меняться, т. е. быть в сущности говоря бесконечно разнообразным, а следовательно, и состояния возбуждения каждого отдельного волокна зрительного нерва могут быть бесконечно разнообразны».

«Другими словами, один и тот же зрительный эффект (например, восприятие прямой) происходит при бесконечном разнообразии комбинаций возбужденных элементов в сетчатке, так как, например, при движении прямой в поле зрения, остающейся при этом для нас все той же прямой, проекция ее захватывает самые различные ганглионарные клетки». Сказанное вполне соответствует общему определению принципиально важного понятия эквипотенциальности: «Система, в которой мы можем мысленно на место одного элемента поставить другой, не изменяя этим характер функционирования всей системы, может быть названа эквипотенциальной».

Мы ограничимся здесь этим, очень кратким, приведением взглядов А. Г. Гурвича, отсылая читателей к отдельным работам, но хотим подчеркнуть только еще следующее: эквифинальность результатов, т. е. возникновение, например, одних и тех же зрительных образов, несмотря на эквипотенциальный характер зрительной системы в целом, т. е. на взаимозаменяемость элементов (внутри данного типа), заставляет думать о каком-то непрерывно работающем регулирующем принципе, т. е. о «нормировке» функциональных состояний со стороны системы как целого.

АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНОГО СУБСТРАТА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Мы рассматриваем эти исследования как естественное продолжение работы, проводимой на скелетных мышцах. Другими словами, мы пытаемся в опытах in vivo составить представление о молекулярных состояниях (неравновесной упорядоченности) саркоплазмы сердечной мышцы, ставя при этом одной из основных задач выяснение зависимости состояния субстрата от непрерывных центральных влияний.

Нам кажется, что такая постановка вопроса, т. е. изучение динамической молекулярной организации сердца имеет принципиальный интерес именно в связи со спецификой этой системы.

Действительно, ведь уже сам феномен автоматизма, присущий проводящей системе сердца, должен быть както связан с организацией ее молекулярного субстрата Не меньший интерес представляет при этом и вопрос о характере субстрата основного мышечного синцития. Высокая лабильность и, вместе с тем, пространственная упорядоченность должны быть присущи молекулярному субстрату саркоплазмы синцития, реагирующему на изменения проводящей системы, изменяющемуся соответственно этому и создающему, таким образом, условия для соответствующих реакций сократительного аппарата. Представляется очень вероятным активная роль синцития, который оказывает воздействие на проводящую систему, регулируя в какой-то степени ее состояния.

То обстоятельство, что необходимая длительность экспозиций охватывает несколько десятков или сотен смен

фаз, т. е. результаты характеризуют только общее преобладание какого-то структурно-энергетического состояния субстрата, перекрывающее возможные специфические для каждой фазы отклонения, не имеет значения.

Широко применяя спектральный анализ, мы изучали излучение сердечной мышцы при нормальном состоянии животного, во время наркоза и в различные периоды после частичной деафферентации сердца. Последние опыты (и соответственные контрольные опыты) проводились на кошках (верхушка левого желудочка). Остальные на кроликах (та же область сердца) и лягушках (желудочек).

Часть экспериментов на лягушках и кроликах ставилась совсем без наркоза, т. е. животные не усыплялись при вскрытии грудной клетки и при разрезании трахеи для искусственного дыхания (кролики). Именно эта группа результатов являлась тем контролем, с которыми сравнивались данные, полученные при наркозе.

Насколько можно судить по сопоставлению пороговых экспозиций, излучение сердца теплокровных (при сравнимых площадях излучения и при нормальных для данных организмов условиях) приблизительно в три раза интенсивнее сердца лягушки.

Однако излучение сердечной мышцы лягушки значительно усиливается при общем наркозе и при охлаждении обнаженных мозговых полушарий до 2—3° (табл. 26).

ТАБЛИЦА 26

Интенсивность излучения сердца лягушки

Экспозиции в секундах	Излучение в %		
	без воздействий	во время наркоза	во время охлаждения полушарий
10	8	50	22
15	4	45	34
20	3		
30	0		
45	30	—	
60	16		
90	—11	—	—

Примечание. Уменьшение положительных митогенетических эффектов при увеличении экспозиции, с частым переходом в отрицательные эффекты, хорошо известный факт (см. методическую главу).

Однотипность реакции сердечной мышцы на наркоз и охлаждение, выражающаяся в усилении излучения желудочка, представляется понятной, так как в обоих случаях речь идет о факторах, тормозящих деятельность нервных центров. Мы помним, что аналогичные явления, наблюдавшиеся на скелетных мышцах, привели к представлению о том, что уменьшение воздействия со стороны центров приводит к уменьшению степени упорядоченности молекулярного субстрата мышц.

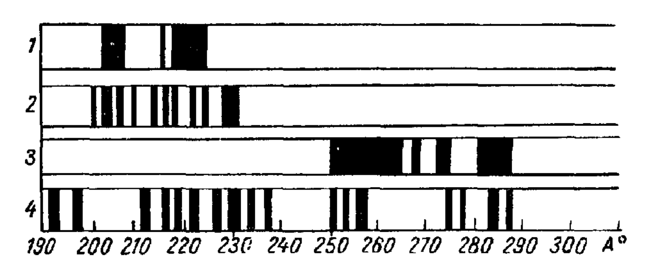


Рис. 27. Спектры излучения сердечной мышцы (А. А. Гурвич, В. Ф. Еремеев, 1966).

1 — лягушка, норма; 2 — лягушка, наркоз; *3* — кролик, норма; *4* — кролик, наркоз

С этими данными совпадают результаты спектрального анализа, показывающие, что сравнительно широкие и немногочисленные полосы спектра нормального сердца лягушки сужаются и увеличиваются по количеству во время общего эфирного наркоза.

Аналогичные, но еще более ярко выраженные данные получены при сравнении спектров сердечной мышцы кролика в нормальном и наркотизированном состояниях. Выраженный широкополосный характер спектра в норме сменяется большим количеством значительно более узких полос, разбросанных по всему спектральному диапазону (рис. 27).

Такое резкое изменение спектров при наркозе подчеркивает зависимость состояния субстрата сердца от центральных воздействий и позволяет предположить, что специфичная для бодрствующего состояния животного неравновесная молекулярная упорядоченность сердечного синцития поддерживается в значительной степени непрерывным влиянием со стороны центров.

Именно в связи с этими данными были изучены спектры излучения сердечной мышцы кошки в норме и в различные сроки после частичной деафферентации, проводившейся экстирпацией спинномозговых узлов на уровне D_1 — D_5. Сама постановка вопроса, при которой отводящей афферентной сигнализации вообще и в частности через задние корешки спинного мозга отводится значительная роль в регулировании трофического состояния сердца, была предложена работающими над этой проблемой патофизиологами (О. Я. Острый и его школа, 1962)[1].

Прямых данных относительно спектра сердца кошки, не обездвиженной каким-либо путем, мы не имели, но косвенные данные позволяют думать, что и в этом случае спектру сердца в норме (т. е. без всяких вмешательств) присущ широкополосный характер. Убеждающие нас в этом результаты следующие: спектр излучения сердца кролика под действием трикурарина (действующего, как известно, в основном на концевые пластинки) аналогичен спектру сердца нормального кролика, т. е. сохраняет широкополосный характер, в то время как уретановый наркоз, тормозящий действие центров, резко сужает, как мы знаем, спектральные полосы. Спектр сердца кошки показывает те же закономерности, т. е. ширину полос при трикурарине и узость при уретане. Сопоставление этих данных позволяет думать, что для нормального сердца кошки также характерен широкополосный спектр и что полосы сужаются вследствие ослабления действия со стороны центров.

Исходя из этого, анализировались спектральные данные, получаемые на кошках, находящихся во время самого опыта всегда под уретановым наркозом, в различные периоды после деафферентации сердца.

Спектры излучения показывают при этом ряд изменений, позволяющих говорить о том, что выраженное в первые недели после операции нарушение упорядоченности (узость полос) постепенно восстанавливается и

---

[1] Операционная подготовка животных и анализ всего комплекса исследований, в который митогенетический метод входил как составная часть (электрокардиографического, биохимического и гистологического), производились в лаборатории нервной трофики (О. Я. Острый).

через год широкополосность спектра проявляется уже ясно (рис. 28).

По-видимому, однако, восстанавливающаяся упорядоченность, которую нужно, конечно, тоже рассматривать как динамическую систему, имеет несколько другой характер. Об этом можно судить именно на основании постепенной эволюции спектров в сторону расширения полос по мере увеличения послеоперационного периода. Действительно, постепенное расширение проявляется несмотря на уретановый наркоз, который у нормальных животных приводит к возникновению более узких полос. Во всяком случае относительно наркотических воздействий неравновесная молекулярная упорядоченность после деафферентации сердца как бы несколько более ригидна. Мы ограничимся пока в этом отношении этим общим замечанием.

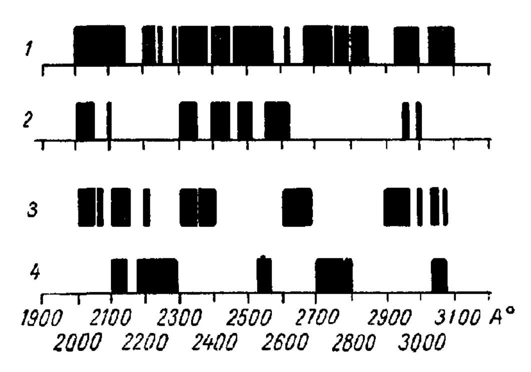


Рис. 28. Спектры излучения сердечной мышцы кошки (А. А. Гурвич, В. Ф. Еремеев, З. И. Собиева, 1966).

1 — под действием трикурана; 2 — уретана; *3* — под действием уретана, через 2 месяца после частичной деафферентации сердца; *4* — через год.

Резюмируя этот последний небольшой раздел, мы можем сказать, что симптом излучения позволяет наблюдать за постепенными явлениями компенсации, относимыми к молекулярному уровню, т. е. за восстановлением в общих чертах молекулярной организации субстрата сердечного синцития. В этом отношении параллелизм между явлениями, наблюдаемыми различными методами, несомненно наблюдается.

ГЛАВА 5. Процессы клеточного деления и митогенетическое излучение

Постоянный интерес А. Г. Гурвича к процессу клеточного деления (митозу) объяснялся тем, что в митозе проявляется во всей яркости как бы сконцентрированная в пространстве и времени закономерная динамика структурированных процессов.

Старт этой последовательности процессов может быть дан простым физическим фактором — фотонами митогенетического излучения и именно этой стороне вопроса будет посвящена вся глава, но в небольшом введении к ней мы хотим дать понятие о тех вопросах, с которыми А. Г. Гурвич связывал целесообразный анализ клеточного деления.

К этому сложному процессу нужно подходить с двух сторон, объединяя, вместе с тем, эти подходы: с точки зрения системы, в которую делящиеся клетки входят как элементы, и тогда ставить вопрос, зависит ли возникновение митоза от воздействия соседних клеток или от воздействия всей системы, т. е. целого, и с точки зрения той сложной, но закономерно и последовательно развивающейся микроскопической морфологии, которой характеризуется каждый данный митоз.

Изучение эмбриогенеза таких объектов, как пыльники цветковых растений, в которых наблюдается волна митозов, захватывающих подавляющее большинство пыльцевых клеток, сперматогенез у амфибий, где еще более выраженные волны митозов характерны для делений созревания первичных сперматогониев, показывает, что митоз можно рассматривать как реактивный процесс (А. Г. Гурвич, 1930). Другими словами, митоз является ответом на воздействие фактора (факторов), вызывающего или, вернее, создающего условия для его возникновения и протекания. Именно эта точка зрения экстраполировалась как наиболее вероятная и общая и на те случаи, где волнообразный, т. е. синхронный, характер делений проявлялся значительно менее резко,

т. е. где нужно было думать об индивидуальных, а не о массовых делениях как о реакциях в ответ на изменение общего состояния системы клеток. С другой стороны, сложная микроскопическая, т. е. и молекулярная, морфология самого митоза требовала предположения, что фактор, вызывающий такую специфическую реакцию со стороны клетки, ответствен за весь ход процесса, т. е. что он является, по выражению А. Г. Гурвича, «ведущим» фактором. Очевидно, что это понятие связывается с представлением об осуществлении пространственной организации внутриклеточных процессов, т. е. с принципом клеточного поля, конструкции которого в применении к процессу митоза были разработаны[1].

Стартовый фактор подготавливает, если можно так выразиться, такое состояние клеточного субстрата, например степень дисперсности (агрегированности) пептидных цепей, которое может легко подчиниться пространственным директивам ведущего фактора, т. е. актуального поля, создавшегося в данный момент в данной клетке под действием полей окружающих клеток.

Мы ограничимся этими общими и краткими положениями и перейдем к изложению большого экспериментального материала, характеризующего стартовый фактор, — митогенетическое излучение (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1945, 1948, 1959).

НЕОБХОДИМОСТЬ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ДЕЛЕНИЯ КЛЕТКИ

Стимулирующее действие митогенетического облучения на клеточное деление не дает само по себе никаких данных для суждения о его роли в процессе деления. Точно такой же эффект можно получить под действием температурного фактора. С этой же точки зрения мы должны оценить и многочисленные разнообразные данные последних лет, несомненно, указывающие на то, что ряд химических агентов стимулирует клеточные деления (обзоры Д. Мазиа, 1964; Цанева и Маркова, 1964).

Роль того или иного фактора в таком сложном процессе, каким является клеточное деление, можно выяснить лишь путем постановки следующих вполне опреде-

[1]Из неопубликованных материалов А. Г. Гурвича.

ленных вопросов: 1) является ли данный фактор безусловно необходимым во всех случаях клеточного деления? 2) можно ли ему отвести вполне определенное место в цепи отдельных актов, из которых складывается весь процесс?

Первому вопросу было вначале уделено основное внимание. Широкое обследование различных животных и растительных делящихся тканей дало в этом отношении однозначные результаты. Во всех случаях, где наблюдались деления, регистрировалось излучение. Это в полной мере относится к культурам тканей (Г. К. Хрущев, 1930, 1934), к одноклеточным организмам — дрожжам (С. Я. Залкинд, 1937), бактериям (L. Wolff, 1931), (Rahn, 1936, 1941); (Л. Б. Северцева, 1928, 1931) и к яйцам, свободно развивающимся в воде.

Большое количество наблюдений, полученных на яйцах морских ежей, обладающих естественной синхронизацией первых стадий дробления (Г. М. Франк, 1929; С. Я. Залкинд, 1929, 1931; В. А. Дорфман и В. Сарафанов, 1932; В. А. Дорфман и Т. Шмерлинг, 1933, 1934), и недавние результаты, полученные на дрожжевых культурах, известную степень синхронизации которых можно вызвать искусственным путем (С. В. Конев, Т. Лыскова, Г. Д. Нисенбаум, 1965), и более поздние данные (А. А. Гурвич, В. Ф. Еремеев, Ю. А. Карабчиевский) представляют принципиальный интерес.

Остановимся на них несколько подробнее. Культура дрожжевых клеток Torula utilis, растущая на среде Ридера, синхронизировалась (40—70% синхронизации) путем удаления из среды некоторых питательных компонентов (азотистых солей или азотистых солей и сахарозы) на 1—3 *ч*. После добавления солей наступал латентный период, длившийся 30—50 *мин,* после чего возникала первая волна почкования; приблизительно через 1,5 *ч* наблюдался прирост абсолютного количества клеток. Вторая волна размножения возникала через 2,5—3 *ч*. Волнам делений предшествовали вспышки излучения. Излучение опережало первую волну почкования приблизительно на 20—30 *мин*.

В отличие от опытов с яйцами морских ежей, проводившихся с биодетектором, излучение дрожжевых культур регистрировалось при помощи фотоумножителей (рис. 29).

Такая однозначная временная последовательность подтверждает причинную зависимость деления от излучения. Очень важны с этой же точки зрения положительные результаты, полученные при облучении способной к делениям клеточной популяции физическим источником ультрафиолетового излучения, интенсивность которого ослаблена до уровня митогенетического излучения. Эти эксперименты были проведены уже ряд лет тому назад (Г. Франк и А. Г. Гурвич, 1927). Несомненная стимуляция делений наблюдалась только при митогенетической интенсивности облучения, повышение интенсивности на несколько порядков приводило к постепенному угнетению клеточного размножения.

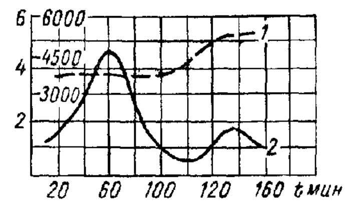


Рис. 29. Излучение и рост синхронизированной культуры дрожжей (С. В. Конев, Т. Лыскова, Нисенбаум, 1965)

1 — кривая роста, *2* — кривая излучения.

По оси ординат слева — число импульсов за 10 *сек*, справа — количество клеток дрожжей в 1 мм[8].

За последнее время аналогичные результаты получены на синхронизированной дрожжевой культуре (С. В. Конев, Т. И. Лыскова, 1965). Авторы получили укорочение латентного периода в облученных культурах по сравнению с контрольными, в среднем в 3,1 раза, что является, конечно, чрезвычайно наглядным.

Эти данные интересны еще и вследствие того, что ясно показывают границы митогенетической эффективности — стимулирующее действие оказывает ослабленный физический ультрафиолет в спектральном диапазоне 2000—3000 Å.

Вся совокупность этих данных приобрела большое значение в свете широких экспериментальных исследований с применением ингибиторов излучения, так называемых тушителей, препятствующих рекомбинациям радикалов и этим самым возникновению фотонов митогенетического излучения и различных гасителей, поглощающих уже возникшее излучение[1]. Если правильно предположение, что для размножения предоставленного

---

[1] Подробная характеристика ракового тушителя и описание механизма его действия смотреть в главе о биологии раковой клетки.

самому себе клеточного комплекса или клеточной совокупности необходимо определенное насыщение такой системы митогенетическим излучением, то при подавлении последнего должно прекратиться и размножение клеток. В такого рода экспериментах необходимо, однако, исключить чисто химическое, токсическое воздействие тушителя на общие жизненные процессы в клетке. Действительно показательным поэтому мог быть только комбинированный эксперимент — эффективное (в смысле стимуляции размножения) внешнее облучение митогенетическим источником клеточного комплекса, в котором митогенетический режим подавлен тушителем.

Для полной оценки выполненных по этой программе исследований необходимы некоторые предварительные данные.

Определение длительности процесса клеточного деления

Так как непосредственные наблюдения над течением митозов удаются лишь на немногих объектах, то в ряде случаев приходится прибегать к косвенным методам, представляющим, однако, особый интерес ввиду того, что они позволяют составить представление о скорости реакции деления на изменившиеся внешние условия. Особенно удобно в этом отношении применение охлаждения. Приостановка течения митозов при низких температурах— общеизвестный, давно установленный факт, широко наблюдаемый и изучаемый и в настоящее время. В опытах на фибробластах цыпленка в культуре тканей (Bucciante, 1929) было установлено, что длительность митоза при оптимальной температуре (40°) — порядка 15 *мин,* при 20° она резко удлиняется, достигая 4 *ч* и больше.

Если охладить один глаз живой лягушки до 2—5°, в то время как само животное и второй глаз находятся при комнатной температуре, т. е. при 16—18°, и зафиксировать оба глаза немедленно после 5—10 *мин* охлаждения, то в роговице охлажденного глаза количество митозов возрастает в среднем на 30% по сравнению с контрольным (Ю. Н. Пономарева, 1936, 1939).

Этот результат дает уже возможность оценки длительности митоза: если за 10 *мин* количество митозов

возрастает приблизительно на 1/3 т. е. и продолжительность митоза увеличивается на 1/3 (причем митоз лишь замедляется), то общая длительность митоза достигает при низкой температуре приблизительно 30 *мин.* Можно поставить обратный опыт, подвергая один глаз нагреванию до 15—20°. В этом случае уменьшение числа митозов по сравнению с охлажденным глазом можно объяснить ускорением их ритма.

Температурные данные дают возможность правильной оценки непосредственных результатов облучения эпителия роговицы лягушки. Митогенетическое облучение одного из глаз при комнатной температуре в течение нескольких минут (3—5 *мин)* вызывает сдвиги в числе митозов по сравнению с контрольной роговицей, обнаруживаемые при немедленной после облучения фиксации и приводящие к уменьшению числа митоза в облученном глазу приблизительно на 30—40%.

Длительность митоза при комнатной температуре равна приблизительно 10—12 *мин,* а ускорение хода митоза позволяет сделать вывод о гом, что изменение лучевого режима объекта влияет на самый ритм митозов. Другими словами, стимуляция клеточного деления путем митогенетического облучения заключается не только в возбуждении преждевременных митозов, но и в ускорении самого процесса деления.

При этом большой интерес представляет факт тесной зависимости ритма деления от интенсивности лучевого режима и чрезвычайная скорость реакции, т. е. отсутствие измеримого латентного периода. Это заставляет предположить наличие непосредственной связи между поглощением фотона и ходом процесса деления.

Аналогичная непосредственная реакция на облучение была обнаружена еще раньше на дрожжевых культурах (С. Я. Залкинд, 1934). Если ритм митоза так сильно зависит от лучевого режима объекта, то естественно предположить, что при подавлении собственного излучения объекта путем применения тушителя митозы могут сохранять в течение нескольких часов до известной степени нормальную морфологическую структуру и поэтому их наличие в этих случаях нельзя рассматривать как отсутствие тормозящего действия со стороны тушителя.

Для уточнения вопроса, имеем ли мы дело при действии тушителя с замершими митозами, можно прибегнуть

к охлаждению одного из объектов, сохраняя контроль к нему при нормальной температуре. При отсутствии сдвига в числе митозов можно сделать вывод, что их ритм настолько замедлен, что время примененного охлаждения составляет лишь незначительную часть времени всей длительности митоза.

Опыты показали с полной отчетливостью правильность предположения, что пресечение излучения путем применения тушителя приводит немедленно к полному замиранию митозов (Ю. Н. Пономарева, 1947) (табл.27).

ТАБЛИЦА 27

Зависимость числа митозов от условий опыта

Условия опыта	Число митозов при температуре		Разница в числе митозов в %
	2°	19°	
Без введения тушителя	518 208	341 140	47 49
После введения тушителя	788 1125	765 955	3 17

Примечание. Охлаждение до 2° производилось в течение 10 *мин* после введения тушителя в лимфатический мешок, после этого объект фиксировался.

Отсутствие торможения при охлаждении после введения тушителя очень убедительно показывает, что митозы можно считать под действием тушителя почти замершими. При дальнейшей оценке влияния тушителя мы должны считаться с этим обстоятельством.

Действие облучения на замершие митозы

Из всего предыдущего вытекает возможность стимуляции митозов, замерших вследствие охлаждения или подавления излучения тушителем, путем их облучения извне. Опыты дали в этом отношении совершенно ясный положительный результат (Ю. Н. Пономарева, 1939).

Митогенетическое облучение охлажденной роговицы приводит к значительному дефициту в числе митозов по сравнению с глазом, находящимся при оптимальной температуре. Другими словами, митозы в роговице охлаж-

денного глаза, почти нацело замирающие, протекают при одновременном облучении гораздо быстрее, чем в глазу, находящемся даже в оптимальных условиях (табл. 28, 29).

ТАБЛИЦА 28

Число митозов в роговице охлажденного глаза без одновременного облучения

Охлаждение до 5°	Контроль при 25°	Разница митозов в %	Охлаждение до 15°	Контроль при 25°	Разница митозов в %
852	346	146	875	867	1
731	517	33	835	857	—3
1567	1235	26			
1369	1072	27	—	—	—
802	510	48	—	—	—

Примечание. Следует обратить внимание на постоянство ритма деления в пределах оптимальных температур от 15° до 25°.

Таким образом, при облучении охлажденного глаза в течение 10 *мин* совершается переход от +30 до —30% (в среднем), т. е. ускорение ритма по крайней мере на 60%.

ТАБЛИЦА 29

Число митозов в роговице при охлаждении и одновременном облучении

При охлаждении 5° и 10 *мин* облучении	Контроль при 25° без облучения	Разница в %
487	695	—30
205	219	— 6
1031	1523	—32
700	1159	—39
767	978	—21
1604	1994	—20
225	906	—76
335	408	—19
399	611	—37

Для правильной оценки такого яркого эффекта облучения необходимо учесть, что стимулирующее действие облучения проявляется в течение сравнительно короткого промежутка времени (10 *мин)*. Было бы поэтому

неправильным думать, что облучение полностью компенсирует пониженный охлаждением метаболизм. Вместе с тем, результаты опытов показывают с полной очевидностью, что механизм деления находится под полным контролем облучения, что представляет для нас в данном случае наибольший интерес.

Влияние подавления излучения

Излучение объектов подавлялось введением в клетки тушителя и некоторых гасителей.

Наиболее просты и убедительны первые по времени опыты, проведенные на дрожжевых культурах (С. Я. Залкинд, 1937). Именно в них дрожжи с введенным тушителем (гасителем) облучались извне. Внешнее облучение должно было компенсировать выпадение собственного излучения системы.

Прирост дрожжевой культуры за 30 *мин* при различных условиях воздействий выражается следующими средними величинами:

	%
Культура без тушителя . .	25
» при прибавлении тушителя	1,3
» при прибавлении тушителя, инактивированного нагреванием	22
Культура при прибавлении тушителя и облучения в течение первых 45 *сек* . .	31
Культура при прибавлении тушителя, предварительно облученного в течение 45 *сек*	3,2

Результаты показывают, таким образом, что при одновременном действии тушителя и облучении размножение культуры протекает нормально. Из контрольного опыта видно, что тушитель от соответственного кратковременного облучения не разрушается.

Значение этих чрезвычайно убедительных данных не уменьшается от того, что действие тушителя не длительно. Приблизительно через полчаса после его прибавления к дрожжевой культуре в ней снова возникает излучение и одновременно начинается размножение клеток. Вторичное прибавление тушителя не подавляет излучения и деления продолжаются с нормальным ритмом. Возможно, что этот изменившийся характер реакции

можно объяснить возникновением своеобразных антител. Эпителий роговицы лягушки и мыши по характеру и скорости реакции на введение тушителя можно сравнить с дрожжевыми клетками. Результаты при этом менее однозначны, так как на этих объектах эффект может быть обнаружен только путем подсчета числа митозов, отражающего, наряду с действительным изменением количества делящихся клеток, и скорость протекания самого процесса деления.

Полученные данные имеют, однако, очень ясный характер. Тушитель — сравнительно высокомолекулярный пептид, несущий отрицательный заряд, вводился в клетки при помощи ионофореза; при этом употреблялись очень слабые токи, порядка нескольких десятков микроампер. Отчетливое торможение митозов, выражающееся в увеличении их числа, наблюдалось уже при однократном введении тушителя в течение приблизительно 15 *мин* и немедленной последующей фиксации глаза. При фиксации после 4 *ч* выдержки на первый план выступало уже не замедление хода митозов, а уменьшение числа делящихся клеток. Степень угнетающего действия в отдельных случаях различна, наряду с уменьшением числа митозов вдвое, были зарегистрированы случаи и с уменьшением в 10—11 раз и больше. Эти последние результаты приводятся в виде отдельных примеров:

Число	митозов	(контрольный глаз)	755; 740; 348
»	»	(глаз с введенным тушителем)	78; 68; 23

Более постоянные и равномерные результаты получались при многократном с перерывами, кратковременном введении тушителя:

Число	митозов	в контроле	450; 384; 138; 313; 81
»	»	в опыте	32; 21; 52, 10; 5
»	»	после введения тушителя инактивированного нагреванием	244; 237

Последний, контрольный, неоднократно повторяемый опыт показывает, что сам ионтофорез и введение постороннего тела в клетку не влияют на ход размножения.

Не менее яркие результаты были получены и при введении сильно разбавленных растворов фурфурола (0,001%), поглощающего ультрафиолетовую область спектра и препятствующего, вследствие наличия двойных связей, рекомбинациям свободных радикалов (Ю. Н. Пономарева, 1939, 1947).

Применение таких небольших концентраций делало возможным проведение контрольных опытов с применением фурфурола и компенсацией его действия облучением (аналогично опытам с тушителем на дрожжевых культурах). Число митозов в роговице лягушки после введения фурфурола составляло:

В контроле	698; 1785; 658; 358
» опыте	98; 89; 82; 30

В опытах с одновременным облучением применялись повторные, короткие с перерывами воздействия фурфурола. Сразу после каждого воздействия один глаз подвергался митогенетическому облучению. Число митозов в роговице после воздействия фурфуролом и облучения одного глаза составляло

В необлученном глазу . . .	78; 51
» облученном глазу . .	224; 186

Эти результаты имеют принципиальное значение, так как они ясно показывают, что фурфурол, помимо возможной хотя и мало вероятной токсичности, действует и как ингибитор митогенетического излучения.

Резюмируя все сказанное относительно влияния подавления излучения на клеточное размножение в роговице, мы можем утверждать, что основной тезис — безусловная необходимость лучевого режима в делящихся тканях для подготовки и протекания процесса деления — прочно обоснован. Сохранение нескольких десятков митозов в опытных роговицах естественнее всего объяснить постепенным замиранием митозов

Наряду с этим проводились обширные исследования действия тушителя и гасителей на протекание митозов в растительных, преимущественно луковых, корешках (И. П. Васильева, М. А. Владимирская, 1945).

Приведем основные данные Корешки половины луковицы погружались в слабый раствор фурфурола (0,045%) на различное время, начиная от 12 и кончая 96 *ч*. Корешки второй (контрольной) половины погружались в воду. Даже длительное воздействие фурфурола было вполне обратимым, после суток повторного (после фурфурола) пребывания в воде, в большинстве корешков восстанавливалось близкое к норме число митозов (И. П. Васильева, 1945) (табл. 30).

ТАБЛИЦА 30

Число митозов в корешках лука, погруженных на 12 *ч* в фурфурол

Объект	Половина луковицы, погруженная в фурфурол	Половина луковицы, погруженная 6 воду
Первая луковица	34 42	901 734
Вторая луковица	14 18 25	366 366 469 527

Примечание. Приведены два наиболее яркие примера из большого числа опытов Митозы подсчитаны на 5 центральных срезах

При пребывании в фурфуроле в течение 96 *ч* число митозов падало до минимума, однако суточное пребывание в воде восстанавливало в некоторых корешках число митозов до нормального уровня, в некоторых же митозы практически отсутствовали. Эти резкие колебания нуждаются в специальном исследовании, нужно только подчеркнуть, что в корешках одной луковицы при нормальных условиях колебания не превышают 30—40%. Число митозов в корешках луковицы составляло;

После 96 *ч* действия фурфурола	4,7,2,1,0, 3, 2
После 96 *ч* действия фурфурола и суточного пребывания в воде.	0,228,318 1, 0, 247

Следует отметить, что те крайне немногочисленные митозы, которые сохраняются после длительного воздействия фурфурола, находятся в состоянии полной дегенерации или вернее инволюции. Наблюдаемая в ряде случаев обратимость длительного воздействия фурфурола делает очень вероятным, что угнетение митозов после 12 *ч* пребывания в нем является результатом нетоксического действия, а именно подавления излучения.

Результаты, полученные с применением ракового тушителя, дали несколько менее резкие, но все же очень ясные результаты (М. А. Владимирская, 1945).

Результаты двух наиболее ясных серий, полученных на двух луковицах, приведены в табл. 31.

ТАБЛИЦА 31

Число митозов в корешках лука после 12 ч пребывания в растворе тушителя

Серия опытов	Число митозов	
	в тушителе	в воде
1-я	66 69 47	356 288 393
2-я	93 31 84 76	356 284 233

Интересно отметить, что длительное воздействие тушителей и гасителей на корешки приводит, помимо угнетения митозов, к еще одному последствию, возникновение которого можно связать с изменением лучевого режима объектов. Уже после 12 *ч* пребывания корешков в фурфуроле (несколько менее выражено в тушителе) большинство даже молодых меристемных клеток, заполненных обычно плазмой, сильно вакуолизировано (А. А. Букатина, 1938).

Аналогичная картина наблюдается в переживающих корешках бобовых, отрезанных от семядоль; митозы в таких корешках замирают обычно в течение первых суток. И в том и в другом случае такую вакуолизацию естественнее всего объяснить голоданием клеток, потребляющих много пластических материалов при повторных

делениях. О стимуляции синтеза пептидов митогенетическим излучением мы говорили выше, разбирая результаты модельных опытов и данные, получаемые на биологических системах. При применении тушителя и гасителей вакуолизация обратима, т. е. исчезает при последующем переносе корешков в воду.

Угнетающее действие тушителя и гасителей на размножение и рост наблюдалось и в ряде других, еще не законченных исследований. Раковый тушитель и фурфурол вызывали угнетение размножения парамеций и прорастания плесеней (Е. С. Биллиг, 1945). В ряде случаев получено резкое отставание роста в культурах тканей (Б. С. Песоченский, 1945). Аналогичное явление, т. е. замедление, а в нескольких случаях приостановка развития, наблюдалось при развитии яиц амфибий (С. Я. Залкинд, 1945).

Из совокупности изложенных результатов вытекают следующие выводы. Известный лучевой режим нужен на всех стадиях жизненного цикла клеток меристем. Подавление излучения ведет и к приостановке процессов, подготавливающих клетку к делению, и к торможению самого процесса деления. Вместе с тем, как следует из данных, полученных на дрожжевых клетках (С. Я. Залкинд, 1937), нет необходимости в непрерывном поступлении фотонов достаточно короткого облучения, чтобы вызвать на значительно большее время восстановление делений в культуре дрожжей, размножение которой было подавлено тушителем.

Излучению придается решающее значение в процессе деления; вместе с тем, как мы знаем из энергетики излучения, некоторые ферментативные процессы излучают только при активации видимым светом. Вполне возможно поэтому, что естественная для ряда биологических меристем темнота (корешки растений, очаги делений внутренних органов) обуславливает более бедный спектральный состав внутреннего митогенетического режима этих систем, который, возможно, исчерпывается почти исключительно спектром, связанным с процессом гликолиза, нуждающимся для излучения только в наличии кислорода. Это предположение было проверено экспериментально на таких системах, как кровь, раковая ткань, метаболирующие культуры дрожжей, в которых интенсивно представлены процессы гликолиза.

Излучение этих систем обнаруживается с полной ясностью и в темноте. Кроме того, нужно считаться с возможностью непрерывного слабого деградационного излучения. Кумуляция энергии происходит, по-видимому, в молекулярно упорядоченных системах непрерывно и часть энергии может, при непрерывных нарушениях статистически небольшого количества констелляций, непрерывно же высвечиваться.

Из всего сказанного вытекает, что едва ли оправданным является резкое разделение механизма подготовки клетки к делению и самого акта деления. Излучение дает старт молекулярным процессам в различные фазы процесса деления. Вместе с тем, остается в полной силе следующее положение: если данная клетка под воздействием всех необходимых факторов, включая и излучение, полностью подготовлена к делению, но дальнейший проток фотонов прекращается, то деление не наступит.

Дальнейшие этапы анализа были связаны:

1) со сравнительным изучением, главным образом путем применения спектрального анализа излучения, состояний протоплазмы меристемных клеток и клеток, потерявших способность к делению, т. е. дифференцировавшихся Именно путем такого противопоставления можно было рассчитывать на достаточно ясное выявление различий;

2) с изучением механизма действия фотонов митогенетического излучения.

СОСТОЯНИЯ ПРОТОПЛАЗМЫ ДЕЛЯЩИХСЯ КЛЕТОК И ПОТЕРЯВШИХ СПОСОБНОСТЬ К ДЕЛЕНИЯМ

Митогенетический анализ позволяет охарактеризовать состояния микроструктур или, в более общей форме, стерические и связанные с ними энергетические состояния. Критерии установления стерических закономерностей заключается в следующем.

Спектральным анализом дается относительная оценка количества концевых групп пептидов, т. е. составляется суждение о степени дисперсности (укрупненности) пептидного субстрата. Таким же путем определялся сдвиг равновесия в сторону лактамной или лактимной формы пептидной связи.

Наряду с этим широко применялся спектральный метод изучения субстрата с точки зрения его комплексообразования, т. е. формирования двух или трехмерных комплексов, путем установления между пептидными цепями слабых электровалентных и водородных связей. На описании применявшихся для этого критериев и полученных результатов мы подробно остановимся дальше. Исследовалось также и деградационное излучение тканей, другими словами, составлялось представление о неравновесной молекулярной упорядоченности субстрата.

Изучение степени дисперсности белков протоплазмы было проведено на меристемных, т. е. усиленно делящихся тканях и на объектах, в которых почти не было клеточных делений (Г. Х. Шуб, 1959). В первом случае речь шла о двухдневном зародыше цыпленка, интенсивно делящихся дрожжевых клетках и меристемной зоне лукового корешка, во втором — о 4—5-дневных куриных эмбрионах, старых дрожжевых культурах и зоне вытяжения корешков.

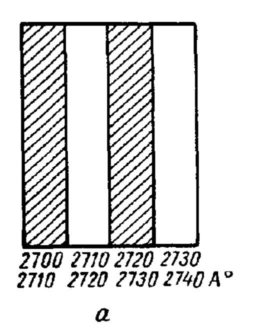
Применялся спектральный анализ селективного рассеяния, при котором ослабленное на несколько порядков ультрафиолетовое излучение от физического панхроматического источника направлялось на объект (куриный эмбрион, расположенный горизонтально, освещался светом, отраженным от зеркала). Возбужденное в объектах митогенетическое излучение направлялось в щель спектрографа (в опытах с эмбрионами излучение отражалось от второго зеркала).

На всех трех объектах в период интенсивного размножения ясно выявлялись концевые группы пептидов ($R—N=H_2$, $R—OH$), что указывало на преобладание сравнительно низкомолекулярных пептидов, и наблюдался сдвиг в сторону лактимнои формы пептидной связи, т. е. полосы, характерные для группировок $R-C=N=R$, $R-OH$.

На всех трех объектах в фазе пониженного размножения полосы, характеризующие концевые группы пептидов, были, наоборот, очень ослаблены, так же как полосы, типичные для лактимнои формы пептидной связи.

Наряду с этим широко применялся другой спектральный тест, разработанный на модельных опытах с желатиной (Н. С. Славина, 1958, 1959). Было показано,

что при процессе гелеобразования, т. е. возникновении двух и трехмерных молекулярных комплексов, спектральные полосы селективного рассеяния, характеризующие отдельные функциональные группы, расширяются. С этой точки зрения Н. С. Славиной были изучены как функциональная группа, входящая в главную пептидную цепь



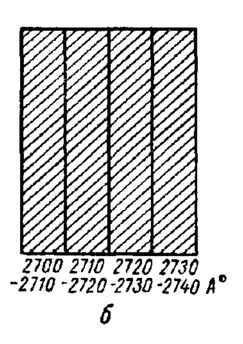


Рис. 30 Спектры фенильной группы в желатине (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

а — в золе; *б* — в геле

R—C=O, так и группа боковой цепи $R—C_6H_5$, принадлежащая фенилаланину.

Полосы этих групп, шириной приблизительно в 10 Å, расширялись при гелеобразовании примерно до 30 Å (рис. 30). Аналогично этому на живых объектах исследовались полосы, соответствующие группе R—C=O, входящей в основную цепь, и оксифенильная группа тирозина $R—C_6H_4OH$, входящая в боковую цепь. При

ТАБЛИЦА 32

Спектр селективного рассеяния функциональной группы C=O в дрожжевой культуре

Возраст культуры	1955—60 А (примыкающая полоса)	1960-75 А (основная полоса)	1975-80 А (примыкающая полоса)	2100-10 А (основная полоса)	2110-20 А (примыкающая полоса)
18 *ч*	2%	59%	1%	54%	4%
72 *ч.*	60%	61%	72%	52%	56%

Примечание. Расширение второй полосы R-C=O в коротковолновую сторону не могло быть исследовано, так как на эту спектральную область накладывается полоса, соответствующая другой функциональной группе.

этом были выбраны системы, которые можно было исследовать как в состоянии интенсивного размножения, так и после перехода в стадию дифференцировки.

ТАБЛИЦА 33

Спектр селективного рассеяния функциональной группы C_6H_4OH в дрожжевой культуре

Возраст культуры	2760-70 А (примыкающая полоса)	2770-80 А (основная полоса)	2780-90 А (основная полоса)	2790-2800 А (примыкающая полоса)
18 *ч*	- 1 %	76%	63%	- 3 %
72 *н*	6496	66%	48%	90%

Культура дрожжей в жидкой питательной среде. Спектральному анализу подвергалась 18-часовая интенсивно делящаяся культура и 72-часовая культура, в которой деления уже заканчивались. Приводятся средние величины большой серии опытов (табл. 32, 33, 34).

ТАБЛИЦА 34

Спектр селективного рассеяния концевых групп **пептидов** в культурах дрожжей

Возраст культуры	2065-70 Å ($R-NH_3$)	2260—70 Å ($R-NH_2$)	2050-60 Å (R-OH)	2230-40 Å (R-OH)
18 *ч*	45%	46%	42%	43%
72 *ч*	1%	3%	1%	4%

Примечание. Экспозиции в опытах со старой культурой не удлинялись возможно, что при их увеличении наблюдалось бы слабое излучение.

Мы видим из этих данных узость основных полос карбонильной группы и тирозина в молодых делящихся культурах и некоторое расширение их в неделящихся клетках.

На дрожжевых клетках исследовалась также степень дисперсности белкового и пептидного субстрата при различных физиологических расстояниях.

В молодых культурах отмечается значительная степень дисперсности белкового субстрата, в старых — несомненное удлинение цепей.

Эпителий хвостового плавника тритона. Как известно, эпителий хвостового плавника тритона представляет однородную многослойную ткань без железистых включений. Исследовалось излучение личинок и развившихся

1ритонов, другими словами, спектральному анализу подвергалось излучение одного и того же животного на различных стадиях развития (табл. 35, 36, 37).

ТАБЛИЦА 35

Спектр селективного рассеяния функциональной группы R—C=O в покровном эпителии тритона

Объект наблюдении	1955—60 Å (примыка юшая полоса)	160-75 Å (основная полоса)	1975—80Å (примыкаю щая полоса)	2090-100 Å (примыка-ющая по юса)	2100—10 Å (основная полоса)
Личинки . .	1%	62%	3%	3%	60%
Выросшие животные	42%	40%	45%	45%	48%

ТАБЛИЦА

Спектр селективного рассеяния функциональной группы R-C_6H_4OH в покровном эпителии тритона

Объект наблюдении	2710—20 Å (примыкающая полоса)	2720-30Å (основная полоса)	2730-40Å (примыкающая полоса)	2760—70 A (примыкающая полоса)	2770—80 Å (основная полоса)	2780-90 A (основная полоса)	2790-2800 A (примыкающая полоса)
Личинки	1%	60%	5%	3%	45%	60%	2%
Выросшие животные	43%	70%	58%	60%	60%	55%	50%

Таким образом, и на этом объекте получены аналогичные результаты — относительное уменьшение слабых связей между пептидными цепями и укорочение цепей у личинок и в противоположность этому возникновение двух- и трехмерных комплексов из удлиненных пептидных цепей у взрослых организмов, т. е. в делящихся системах наблюдается ясный сдвиг структурных закономерностей белкового субстрата клетки в сторону его большей мобильности

В связи со всем сказанным приобретает особенный интерес вопрос об энергетическом состоянии меристемных, т. е. делящихся систем и систем дифференцирующихся клеток Мы подходим к нему с другой точки зрения, чем в большинстве биохимических *и* биологических представлений, т. е. анализируем значение высоких

ТАБЛИЦА 37

Спектр селективного рассеяния концевых групп пептидов в покровном эпителии тритона

Объект наблюдений	2065-70 Å ($R-NH_2$)	2260-70 Å ($R-NH_2$)	2050-60 Å (R-OH)	2230—40 Å (R-OH)
Личинки . .	54%	50%	63%	73%
Выросшие животные . .	50%*	52%*	6%	2%

* Мы рассматриваем эти полосы как не характерные для группы $R-NH_2$, а кач результат накладывания полос других групп. К этому заключению нас побуждает исчезновение полос R-OH v выросшего животного.

энергетических потенциалов, а не только небольших энергетических депо в виде макроэргических соединений. Данные, приведенные в главе о физиологической теории протоплазмы, давали ясное представление о неравновесном возбужденном состоянии субстрата клеток различных органов и тканей, о котором мы судили по наличию деградационного излучения.

Тем больший интерес представляло выяснение этого вопроса в меристемных тканях Во всех исследованных с этой точки зрения объектах обратимое охлаждение вызывало деградационное излучение и, так как в большинстве из них длительность интеркинеза значительно превышает длительность самого деления, то высокое энергетическое состояние можно в основном отнести именно к интерфазе в целом, не дифференцируя пока, к каким именно стадиям.

Этот факт позволяет поставить вопрос о том, не связана ли премитотическая вспышка излучения с разрядкой этого высокого потенциала. Можно, например, представить, что сдвиги окислительного метаболизма, относительно интенсивности которого в премиготическом состоянии нет, по-видимому, установившейся точки зрения, могут привести к перестройке неравновесной упорядоченности, связанной с ее частичным нарушением

В следующей главе, посвященной биологии раковой клетки, мы еще раз вернемся к вопросу об энергетическом потенциале неравновесного субстрата.

МЕХАНИЗМ СТИМУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ МИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ФОТОНОВ В ПРОЦЕССЕ КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ

Нужно подчеркнуть, что биологические детекторы реагируют на облучение повышением размножения без выраженной селективности, отличаясь этим от более элементарных митогенетических реакций, например от вторичного излучения. Большим количеством данных было показано, что эффективность действия повышается в коротковолновой области спектра и падает в длинноволновой, но что несомненное значение имеет и степень поглощения ультрафиолетовой части спектра белками субстрата. При применении сильно ослабленного, постоянного по интенсивности физического источника ультрафиолетового излучения, было установлено, что эффективность действия на биологический детектор выше в области максимального поглощения белков (2800 Å) и ниже, в лежащей рядом, но менее поглощаемой области (2500 Å) (В. Ф. Еремеев, 1940) Эти данные однозначно показали, что величина фотона сама по себе не играет решающей роли. Вместе с тем, митогенетическое, т. е. стимулирующее деление действие обрывается, как говорилось раньше, приблизительно у 2700 Å при условии полной темноты и у 3250—60 Å при дополнительной подсветке детектора невысокими по энергии фотонами (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945).

Приведем отдельные опыты, показывающие зависимость митогенетического эффекта от добавочного освещения объекта (табл. 38).

Сравнение этих результатов с теми, которые были получены при изучении синтеза пептидов из аминокислот, показывает на идентичность энергетических условий В обоих случаях необходимым при этом является добавочная энергия не меньше 18 *ккал* (инфракрасный свет). Без добавочного освещения граница эффективного действия ультрафиолетового спектра сдвигается в более коротковолновую область — 2700—2800 Å, соответствуя фотонам с энергией в 105—110 *ккал/моль*. Это поразительное совпадение энергетических условий приводит к следующему выводу: стимулирующее действие митогенетического излучения основано в значительной степени на возникновении усиленного пептид-

ТАБЛИЦА 38

Облучение дрожжевой культуры и эпителия роговицы длинноволновой областью митогенетического излучения

Объект	Длина волны облучения (Å)	Добавочное освещение	Эффект в %
Дрожжевая культура	3300	Дневной свет	83
То же	3300	То же	0
» »	3260	Инфракрасный 15 000 Å	93
» »	3260	Темнота	10
Эпителий роговицы	3260	То же	2
То же	3260	Инфракрасный 15 000 Å	71
» »	3260	Инфракрасный 20 000 Å	3
	3300	Дневной свет	4

ного синтеза. Такая формулировка несколько разочаровывает своей ограниченностью, но, вместе с тем, уже с самого начала изучения механизма митогенетического эффекта было ясно, что элементарный физический фактор — ультрафиолетовые фотоны — может иметь в этом основном и сложном жизненном процессе какое-то ограниченное и простое, но вместе с тем важное, даже решающее, значение. Оценка фотона как стартового фактора или, если употреблять общепринятое выражение, как спускного механизма является, таким образом, полностью адекватной, так как поглощенный фотон влечет за собой развитие цепного процесса, в данном случае процесса синтеза.

Вместе с тем, из данных Г. Х. Шуб и Н. С. Славиной следует, что пептидный синтез в меристемных клетках идет по своеобразному пути. Преобладает лактимная форма пептидной связи, и это является очень существенным. Известно, что вероятность возникновения водородной связи между пептидными цепями несколько меньше при лактимной, чем при лактамной форме, а это последнее обуславливает большую мобильность пептидного субстрата. Действительно, практическое отсутствие в делящихся тканях двух- и трехмерных белковых комплексов было, как мы знаем, показано Н. С. Славиной. Таким образом, простой физический

акт — поглощение фотона — вызывает ряд последствий, приводящих субстрат клетки в своеобразное состояние динамического равновесия, сдвинутого в сторону мобильности и это должно очень хорошо соответствовать процессу подготовки к митозу и самому циклу митоза, которые, как мы знаем, можно охарактеризовать как наиболее яркое проявление «структурированных процессов»

Один из путей дальнейшего исследования мог бы заключаться во все более точном установлении времени возникновения и длительности вспышки излучения перед делением клеток. Как уже говорилось выше, сам факт установлен на естественно синхронизированных яйцах морских ежей и искусственно синхронизированных дрожжевых культурах.

Наблюдаемое непосредственно перед делением дрожжевых культур повышение активности пептидаз и протеаз (Scherbaum, 1960) хорошо увязывается с излучением, механизм возникновения которого связан в основном с рекомбинациями свободных радикалов, сопровождающих гидролитические процессы Но это является только одной стороной вопроса, вторая — биологически более важная — заключается в уточнении стартовой роли фотона, т. е в возможно более точном установлении связи между поглощенной энергией фотона и возникновением определенного химического этапа. Такая постановка вопроса является продолжением изучения той общей зависимости уровня процессов синтеза от лучевого режима, которая подробно рассматривалась выше.

ГЛАВА 6. Митогенетический анализ биологии раковой клетки

При изучении поставленной задачи А Г. Гурвич концентрировал внимание на следующих специфических для процесса малигнизации явлениях: раковая клетка агрессивна, т. е. она разрушает при контакте окружающие ткани; она неудержимо размножается; ее конечная судьба связана не с переходом в специализированное дифференцированное состояние, а с дегенерацией.

Митогенетические данные, давая на некоторые вопросы четкий ответ, позволяют вместе с тем связать ряд этапов в общую картину, характеризующую во многих отношениях специфику процессов, развивающихся при малигнизации. Рассмотрим последовательно факты

АГРЕССИВНОСТЬ РАКОВОЙ КЛЕТКИ

Инфильтрирующий рост раковой ткани, т. е ее способность разрушать и как бы расплавлять окружающие элементы, должен быть связан с особенностями ее ферментативной деятельности или в более общей форме, с особенностями ее метаболизма Эта особенность раковой опухоли очень ясно проявляется на аденокарциноме Эрлиха, привитой мышам Результаты ее разностороннего изучения привели к следующему выводу. Поверхность раковой клетки представляет собой, образно говоря, орган с очень интенсивной и разнообразной ферментативной деятельностью, отличающейся в некоторых отношениях от процессов, протекающих внутри клетки. Эти своеобразные свойства клеточной поверхности дают объяснение агрессивности раковой клетки Для анализа этих явлений необходимо ознакомиться с режимом излучения раковой клетки.

Раковая ткань является одним из наиболее интенсивных источников митогенетического излучения,

особенно при сохранении опухоли в организме. Можно ли на основании интенсивности излучения говорить об интенсивном обмене веществ в раковой клетке и по данным спектрального анализа составить суждение о степени развития отдельных ферментативных процессов? Мы знаем на примере печени — органа, который не излучает и обладает вместе с тем высоким уровнем метаболизма, что отсутствие излучения не является критерием суждения об интенсивности обмена. С опухолью положение обратное, так как вопрос стоит об оценке уровня метаболизма на основании позитивных данных, т. е. наличия излучения. Вместе с тем, нам уже известно, что интенсивность излучения зависит не только от частоты возникновений свободных радикалов и их рекомбинаций, но и от концентрации флуоресцентов. Меньшая интенсивность спектральных полос опухолевой ткани, связанных с процессом гликолиза, не означает слабость гликолитических процессов, что противоречило бы и биохимическим данным.

Напротив, большая интенсивность флуоресценции пептидов в излучении опухолей дает возможность для значительно более однозначного суждения. Она указывает на высокую «пептизирующую» активность раковой клетки как в количественном, так и в качественном отношении, т. е. на глубину расщепления белковых молекул. Этот последний факт не является, как казалось бы на первый взгляд, тривиальным, если отдать себе отчет в том, что излучение продуцируется в основном поверхностью клетки и что речь идет, быть может, об активности мономолекулярного слоя, покрывающего клеточную поверхность

Свойства поверхностного слоя

Представление о специальных свойствах, присущих поверхности раковой клетки, возникает при анализе следующего очень интересного явления. Немедленно после декапитации мыши излучение предварительно обнаженной опухоли прекращается Однако поливка опухоли физиологическим раствором, содержащим также небольшие концентрации глюкозы, белков или нуклеиновой кислоты, сразу же восстанавливает излучение, с присущей ему до декапитации интенсивностью. При

замене питательного раствора чистым физиологическим раствором излучение исчезает снова, но при быстрой последовательности смен растворов восстановление излучения можно наблюдать неоднократно. Это быстрое и радикальное изменение картины можно объяснить, допустив, что субстраты приходят в непосредственное соприкосновение с ферментами, т. е. что ферменты расположены непосредственно на поверхности клетки. Приведем в качестве иллюстрации первые по времени опыты с дегтярной опухолью (С. Я. Залкинд, Л. М. Шабад, 1931). Эффект излучения при поливке опухоли-

Чистый раствор Рингера 1; 6
Раствор Рингера с глюкозой . . .30, 40

Наиболее убедительным доказательством поверхностного расположения ферментов является возможность их легкого и полного отмыва при коротком пребывании опухоли в небольшом количестве рингеровского раствора. Эти опыты приобретают особенную убедительность при сопоставлении их с отрицательными данными, получаемыми на нормальных органах (печени, почке) при соответственных попытках отмыва. Не менее показателен и тот факт, что такой отмыв происходит в течение короткого времени (20—30 *мин)* и дальнейшее пребывание в новой жидкости уже не дает тех же результатов. Если бы ферменты выступали из глубоких клеточных слоев, то процесс совершался бы, несомненно,

ТАБЛИЦА 39

Излучение растворов Рингера после **пребывания в них опухолей**

Раствор	Излучечие в % при экспозициях (в *мин)*					
	1	2	3	4	5	6
Чистый раствор Рингера					0	3
Раствор Рингера с глюкозой	40	40	9	—24	—28	
Раствор Рингера с нуклеиновой кислотой	1	30		37		
Раствор Рингера с белком		3		31		50

Примечание. Переход поло кherитель IOI о эффекта в отрицательный доказывает, что общее количество фотонов, полученное детектором при длительных экспозициях, привело к развитию чрезмерно интенсивных вторичных процессов

медленнее и длился бы дольше (табл. 39). Для опытов были использованы лишь те случаи, в которых раствор Рингера после пребывания в нем опухоли не обнаруживал и следов помутнения, причиной которого могло быть повреждение ткани.

Излучение растворов Рингера после последовательного отмыва в них одной и той же опухоли выражалось в следующих цифрах:

	%
Первый отмыв	
Раствор Рингера с глюкозой	44
» » с нуклеиновой кислотой	36
Второй отмыв	
Раствор Рингера с глюкозой	4
» » с нуклеиновой кислотой.	0

Излучение растворов Рингера после 2—3 *ч* пребывания в нем различных органов составляло:

Печень	
Раствор Рингера с глюкозой	8
» » с белком	3
» » с нуклеиновой кислотой	2
Селезенка	
Раствор Рингера с глюкозой	0
» » с белком . .	—3
» » с нуклеиновой кислотой	—1
Почка	
Раствор Рингера с глюкозой	3
» с белком	6
» с нуклеиновой кислотой	4

Мы вернемся к представлениям о структуре поверхностного слоя несколько дальше.

Отмываемые от поверхностного слоя ферменты имеют своеобразный характер. В противоположность соответствующим ферментам, встречающимся в других средах, например в крови, ферменты отмыва заряжены отрицательно. Ввиду важности этого обстоятельства мы коротко опишем метод определения заряда путем катафореза.

Средний участок U-образной трубки, снабженной двумя кранами, заполняется отмывной жидкостью, т. е. раствором Рингера,

после пребывания в нем опухоли, крайние отрезки трубки заполнены 1% раствором хлористого натрия, платиновые электроды погружены в них.

Постоянный ток при 40 *в* дает в этих условиях в растворе 20—25 *ма* (сила тока регулируется реостатом). Длительность катафореза 5—6 *ч.* После его окончания краны закрываются и испытываются свойства анодной и катодной фракций. Анодная фракция, для которой характерна кислая реакция, нейтрализуется перед испытанием бикарбонатом нагрия. Действие всех трех ферментов при прибавлении соответствующих субстратов (глюкозы, белка, нуклеиновой кислоты) обнаруживается исключительно в анодной фракции.

Помимо отличий в электрическом заряде ферменты отмыва характеризуются и чрезвычайно низким температурным коэффициентом. В то время как излучение гемолизированной крови полностью прекращается при температуре в 5°, излучение, возникающее при прибавлении отмыва к одному из субстратов, не понижается и при охлаждении до 3°. Несомненно, что эти специфические свойства ферментов поверхностного слоя раковой клетки представляют большой интерес и нуждаются в дальнейших исследованиях.

Помимо своеобразной модификации обычных ферментов, в отмыве обнаруживается еще так называемый тушитель — соединение, специфичное для злокачественных новообразований, подавляющее излучение и, как говорилось выше, временно тормозящее клеточные деления. Вопрос о тушителе приобретает особую важность ввиду значения феномена тушения в качестве метода ранней диагностики рака. Эта сторона исследований подробно изложена в специальной монографии (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, С. Я. Залкинд, Б. С. Песоченский, 1947).

Представление о тушителе как о своеобразном орудии агрессии можно считать довольно правдоподобным, так как подавление клеточных делений, а быть может и некоторое угнетающее действие на метаболизм прилегающих тканей вряд ли можно считать вполне безразличным.

Вернемся к вопросу о свойствах поверхностного активного слоя. Легкая отмываемость ферментов от опухоли не является показателем того, что непрерывное выделение в окружающую опухоль среду идет и в интактном организме. Экспериментальные данные нужно рассматривать скорее как искусственно созданный элюационный процесс, но именно сходство с процессами

элюации от обычных адсорбентов и является подтверждением основного представления о поверхностном слое раковой клетки как о мономолекулярном.

Поверхностный слой обладает значительной автономностью по отношению к остальным участкам клеточного тела и между ними проявляется даже некоторый антагонизм. Так, например, входящие в состав поверхностного фильтра ферменты не оказывают, по-видимому, действия на расположенные под ними субстраты, т. е. составные части клеточного тела. На это указывает немедленное исчезновение излучения после декапитации животного. Проще всего это можно объяснить, если представить, что ферменты образуют монослой или входят в его состав, причем направлены своими активными группами наружу и закреплены в клеточном теле своими неактивными носителями. При этом непосредственная близость активных групп с субстратами становится невозможной.

Было установлено, что в то время как тушитель содержится наряду с ферментами в поверхностном слое клетки, в свежеприготовленной вытяжке (кашице) из раковой ткани его нельзя обнаружить. Ряд данных показывает, что тушитель находится внутри клетки в связанном какими-то элементами субстрата состоянии.

Специфические свойства поверхностного монослоя поддерживаются и проявляются только в живом организме. При переживании он довольно скоро начинает эволюционировать в сторону постепенной дезагрегации. На это указывает ряд фактов. Во-первых, было установлено, что в целом организме облучение опухоли извне не приводит к нарушению поверхностного слоя, но сразу же после декапитации животного, т. е. во время первых минут переживания, облучение приводит к изменениям клеточных поверхностей, которые правильнее всего рассматривать как дезагрегационные явления. В условиях переживания опухоли дезагрегация наступает спонтанно, т. е. без облучения, растягиваясь при этом на более длительное время. На нарушение поверхностного слоя указывает и тот факт, что спектр излучения переживающей опухоли отличается от спектра поверхностного излучения опухоли на целом организме и что должно пройти измеримое время, прежде чем возникнут эти изменения.

Устойчивость поверхностных клеточных слоев опухоли на живом животном может быть объяснена различно. Можно предположить, что осуществляется непрерывная замена ферментных молекул новыми молекулами ферментов, поступающими из внутренних слоев клетки. Большая устойчивость может быть связана с тем, что носители активных групп, чувствительные к внешним относительно опухоли воздействиям, защищены активными группами, направленными наружу.

Возможно, что устойчивость, обуславливается связью ферментов с адекватными субстратами, т. е самим фактом непрерывной активности ферментов. Мы говорили уже о том, что излучение переживающих опухолей отличается по своему спектральному составу от излучения поверхности опухоли на живом животном. То, что при переживании выступает на первый план излучение глубоких слоев клетки, подтверждается тем, что в противоположность низкому температурному коэффициенту ферментов, отмывающихся от поверхностных слоев, ферментативное излучение глубоких слоев характеризуется ясно выраженной температурной зависимостью.

Однако в спектре излучения глубоких слоев раковой клетки не присутствуют полосы, характерные для пептидной связи, в то время как полосы, характеризующие глюкозу и фосфаты, ясно выражены. Этот факт имеет большое значение и указывает, что в раковой клетке не происходит глубокого расщепления белковых тел. Можно во всяком случае сказать, что в раковой клетке не присутствуют низкие пептиды[1]. Наряду с этим чрезвычайно интенсивная эпицеллюлярная ассимиляторная деятельность раковой клетки происходит за счет окружающей среды.

СТРУКТУРНОЕ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВОГО СУБСТРАТА РАКОВОЙ КЛЕТКИ

Мы переходим сейчас к данным, имеющим, с нашей точки зрения, принципиальное значение, так как они дают представление о некоторых аспектах специфики

---

[1] В эмиссионных спектрах различных нормальных тканей (включая и меристемы) пептидная компонента излучения представлена очень отчетливо.

метаболизма раковой клетки, относящихся к ее структурным и энергетическим закономерностям (Н. С. Славина, 1959). Мы будем сравнивать полученные в этой области результаты с данными, характеризующими нормальные меристемы.

Критерием оценки здесь, как и там, являлось суждение о концевых группах пептидов, т. е. о степени дисперсности белкового субстрата, о ширине спектральных полос, связанной с возникновением двух- и трехмерных белковых комплексов и о деградационном излучении, характеризующем энергетическое состояние субстрата.

Объектом исследования являлась аденокарцинома Эрлиха, вызванная подкожным введением асцитической жидкости. Опыты проводились на целом организме, на декапитированных мышах и на изъятой опухоли. В основном применялся спектральный анализ селективного рассеяния, позволяющий анализировать излучение, идущее из глубоких слоев клетки. Различие между опухолевой тканью и нормальными меристемами проявлялось на основании этих методов с достаточной степенью достоверности.

Ясное обнаружение концевых групп пептидов при исследовании опухолей указывало на выраженную дисперсность белкового субстрата внутри клетки. Это явление противоречит на первый взгляд отсутствию спектральных полос во внутреннем излучении раковой клетки, характерных для пептидной связи. Дальнейшее исследование привело, однако, к однозначным результатам. Расширение спектральных полос, характеризующих функциональные группы $R—C=O$ и $R—C_6H_4OH$, показывает, что пептидные цепи объединены в двух- и трехмерные комплексы. Другими словами, характер дисперсности белкового субстрата раковой клетки во всяком случае не аналогичен дисперсности нормальной способной к делениям клетки. Приведем средние данные из достаточно большого числа опытов. Излучение концевых групп пептидов в спектре селективного рассеяния раковой клетки составляло:

2060—2070Å . . .	53
2260—2270Å . . .	45
2050—2060Å . . .	49
2230—2240Å . . .	43

Эффект излучения расширенных полос R—C_6H_4OH в спектре селективного рассеяния раковой клетки составлял:

		%
Для примыкающей полосы	2710—2720Å	. 23
» основной полосы	2720—2730Å	. 40
» примыкающей полосы	2730—2740 Å	. 50
» » »	2760—2770Å	. 43
» основной полосы	2770—2780 A	. 44
» » »	2780—2790A	. 42
» примыкающей полосы	2790—2800 A	. 53

Эффект излучения расширенных полос R—C=O в спектре селективного рассеяния раковой клетки выражался в следующих цифрах:

		%
Для примыкающей полосы	1955—1960Å	44
» основной полосы	1960—1975 Å	48
» примыкающей полосы	1975—1980 Å	63
» » »	2090—2100Å	49
» основной полосы	2100—2110 Å	42
» примыкающей полосы	2110—2120Å	51

Таким образом, из приведенных данных вытекает, что для раковой клетки характерно преобладание коротких пептидных цепей, связанных между собой при помощи электровалентных и водородных связей в двух- и трехмерные комплексы. Наряду с этим спектральный анализ не обнаруживает в раковой клетке лактимной формы пептидной связи. Мы помним, какое большое значение мы придавали наличию лактимной формы в клетках нормальных меристем, рассматривая ее как показатель мобильности пептидных слагаемых субстрата, очень существенной для осуществления деления клетки и таким образом должны прийти к следующему заключению. Мобильность субстрата может реализоваться при некоторых различных (во всяком случае при двух рассмотренных) состояниях субстрата: 1) при смещении равновесия в сторону лактимной формы связи и как следствие этого малой вероятности возникновения связей между пептидными цепями (нормальные меристемы); 2) при наличии пространственно более сложных (двухмерных и трехмерных) комплексов пептидных цепей, сохраняющих при этом, однако, очень небольшую протяженность, т. е. коротких (делящаяся раковая ткань).

Наряду с наблюдающимися структурными различиями, было установлено, что раковая ткань в отличие от нормальных меристем не дает деградационного

излучения. Это указывает на принципиальное различие в энергетических режимах тех и других клеток. Неравновесная молекулярная упорядоченность представляет собой динамический аппарат накопления энергетического потенциала, непрерывно в какой-то степени растрачиваемого, но в основном утилизируемого на закономерное протекание внутриклеточных функций. Именно к этому сводится сущность представлений физиологической теории протоплазмы. Другими словами, нормальная клетка утилизирует энергию метаболизма экономно и все время сохраняет какой-то энергетический запас. Раковая клетка «расточительна», так как накопление энергии до сравнительно высокого уровня является очень мало вероятным, значительная часть поглощенной молекулами энергии растрачивается ими в форме митогенетического излучения.

Однако было бы неверно представлять, что в раковой клетке совсем не реализуется неравновесное состояние субстрата. Мы хотим лишь подчеркнуть, что он не способен накапливать высокий энергетический потенциал, что весьма существенно. Высокий потенциал констелляций в нормальных клетках может способствовать возникновению между элементами констелляций более устойчивых связей, т. е. возникновению более стабильных структур, приводящих постепенно к клеточной дифференцировке. Непрерывная отдача энергии молекулярным субстратом раковой клетки уменьшает эту возможность.

Попробуем теперь связать изложенные факты и непосредственные выводы из них в общую картину, включающую гипотетические, но правдоподобные представления.

Если сопоставить повышенную по сравнению с нормальными меристемами интенсивность излучения раковой ткани с тем, что митотический коэффициент в последней не выше, а может быть даже несколько ниже наблюдающегося в норме, то можно прийти к выводу, что излучение в раковой ткани не носит характера премитотических вспышек, а продуцируется непрерывно. Такое постоянство излучения является понятным, так как, как показывают экспериментальные данные, способностью к непрерывному излучению обладают канцерогенные вещества и эндогенные бластомогенные вещества. Излучение связано с их непрерывным окислением в при-

сутствии атмосферного кислорода (Н. Н. Каннегисер, 1937, 1949; Е. С. Биллиг, 1947, 1959; Н. И. Брауде, 1959).

Таким образом, проникающие в клетку сравнительно низкомолекулярные соединения — низшие пептиды или даже аминокислоты (продукты деятельности ферментативно-активного поверхностного клеточного слоя) попадают в режим непрерывного облучения. Он должен способствовать процессам синтеза, т. е. возникновению более высоких пептидов. Однако непрерывность облучения должна привести и к обратным процессам, т. е. к разрывам образовавшихся пептидных цепей. Другими словами, в клетке должно возникнуть состояние динамического равновесия и поэтому представляется вероятным, что для субстрата раковой клетки характерно преобладание средних по величине пептидов. Соединения такого характера являются хорошими флуоресцентами и усиливают насыщение раковой клетки митогенетическими фотонами.

Повышенный митогенетический режим может способствовать ионизации функциональных групп, входящих в пептидные цепи, т. е. возникновению электровалентных межмолекулярных связей, а следовательно, построению комплексов из пептидных цепей. Мы помним, что Н. С. Славина обнаружила их при помощи спектрального анализа. Можно допустить, что возникновение объемных комплексов препятствует, вместе с тем, их достаточно точному сближению, необходимому для возникновения общих энергетических уровней. Миграция энергии, требующая протяженных общих энергетических уровней, и накопление энергии в отдельных группах до высокого потенциала является поэтому в раковой клетке маловероятной. Отсутствие деградационного митогенетического излучения можно объяснить именно таким образом.

ОСОБЕННОСТИ ДЕЛЕНИЯ РАКОВОЙ КЛЕТКИ И ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ЛУЧЕВОГО РЕЖИМА

Совершенно естественным является вопрос о связи клеточных делений в раковой ткани с насыщенным митогенетическим внутриклеточным режимом. По аналогии с нормальными меристемами можно его попытаться разрешить добавлением к клеточному излучению

внешнего облучения или, наоборот, выключением собственного клеточного излучения путем введения тушителя или гасителей.

Однако уже первые эксперименты по облучению раковой ткани на живых животных или немедленно после их декапитации (опыты проводились на мышах на маленьких метастазах[1], образующихся на селезенке, печени или диафрагме) дали результаты, отличающиеся от получаемых на нормальных меристемах, например на эпителии роговицы. В последнем случае облучение на живом приводит к немедленному ускорению хода митоза и результат выражается поэтому в уменьшении их числа по сравнению с контролем. Облучение метастазов не давало сдвига (Ю. Н. Пономарева, 1959).

Число митозов в облученном и необлученном участке метастаза составляло:

На облученном участке	205;	319
» необлученном »	207;	322

Отсутствие реакции на облучение на живой опухоли может быть гипотетически сведено к непроницаемости живой раковой клетки для излучения. В связи с этим особенно интересен яркий положительный эффект, получающийся при облучении метастаза, сохраняющегося на трупе животного в течение получаса после декапитации (Ю. Н. Пономарева, 1959) (табл. 40).

Речь действительно, по-видимому, идет о разрушении поверхностного слоя и проникновении вследствие этого внешнего облучения. Это вполне соответствует данным, показывающим, что через некоторое время после декапитации животного обнаруживалось излучение из глубинных слоев клетки. Именно это сопоставление заставляет думать о несомненной зависимости деления раковой клетки при физиологических условиях, т. е. на живом, от ее внутриклеточного лучевого режима. В пользу этого говорят также экспериментальные данные, показывающие аналогично полученным на роговице глаза,

---

[1] Метастаз делился пополам и одна половина служила контролем. Предварительные многочисленные подсчеты показали, что в участках одного и того же метастаза, отделенных расстоянием в 5—6 *мм,* количества митозов (в 50 полях зрения) прекрасно совпадают.

ТАБЛИЦА 40

Число митозов в облученном и необлученном участке метастаза

Облученный участок	Необлученный участок	Разница числа митозов в процентах
218	130	67
204	113	80
271	196	38
236	148	59
240	173	38
350	170	105
399	332	20
186	89	100
178	111	60
112	73	53
135	82	64

что введение в клетки тушителя излучения[1] настолько замедляет ход деления, если не совсем подавляет его, что охлаждение в течение 10 *мин* не сказывается замедляющим образом на митозах метастаза (табл. 41).

ТАБЛИЦА 41

Содержание половинок метастаза при различных температурах после подкожного введения тушителя живой мыши

Число митозов при *t*°		Разница в %
5°	38°	
839	868	3
1033	1060	2
1117	1114	0
660	666	0

По ориентировочным данным, полученным раньше (Б. С. Песоченский, 1945), гораздо резче, чем при воздействии на опухоль на целом организме, обнаруживается действие тушителя на клетки злокачественного образования (саркома) в культурах тканей. В ряде случаев

[1] В данных опытах применялся тушитель, после мягкого кислотного гидролиза, легко проникающий в клетки.

обнаруживалась резкая приостановка роста культур при прибавлении тушителя. Совокупность этих данных показывает с достаточной ясностью зависимость делений раковых клеток от собственного, т. е. внутриклеточного лучевого режима.

«Вопрос о возможности полного подавления размножения раковых клеток путем угнетения их излучения имеет, конечно, колоссальное значение. Для его выяснения необходима интенсивная экспериментальная работа, во время которой могут, однако, возникнуть принципиальные трудности, так как есть основания думать, что раковые клетки в довольно значительной степени разрушают вещества, применяемые для подавления излучения, или вырабатывают своеобразные антитела» (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1948). К этому последнему вопросу мы еще вернемся при описании свойств тушителя и так называемого антитушителя.

Пока нужно во всяком случае подчеркнуть ту резкую разницу, которая бросается в глаза при сравнении переживающей раковой опухоли с переживающей нормальной меристемой, например роговицей глаза. Мы уже говорили, что облучение вызывает в эпителии роговицы только сдвиг в ритме находящихся уже на ходу митозов, в то время как в раковой ткани возникает немедленная сильная реакция, приводящая через несколько минут после облучения почти к удвоению митозов. «Это поведение раковой клетки можно, образно говоря, назвать ее постоянной готовностью к мобилизации всех ресурсов, в противоположность нормальным меристемным клеткам» (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1948).

Не следует, однако, упускать из виду, что эта способность к мобилизации сохраняется на переживающих клетках сравнительно короткое время, порядка получаса, что, однако, совершенно не меняет существа дела.

Подходя к анализу специфичности раковой клетки с точки зрения биологических предпосылок, А. Г. Гурвич подчеркивает принципиальную важность следующего различия: акт деления нормальной клетки (митоза) асимметричен. Это означает, что все физиологические меристемы как растительных, так и животных объектов — вполне ограниченные, более или менее резко очерченные зоны клеточного размножения. После определенного числа делений дочерние клетки достигают границы

этой зоны; одна из них, оставаясь в ее пределах, продолжает делиться, в то время как другая, вышедшая за пределы зоны, утрачивает способность к дальнейшему делению и, как правило, дифференцируется. В противоположность этому митозы раковой клетки биологически вполне симметричны, т. е. обе дочерние клетки сохраняют способность к делениям и не дифференцируются. Неудержность размножения раковой ткани нужно рассматривать именно с точки зрения симметричности (деполяризации) митозов, так как процент делящихся клеток, т. е. митотический коэффициент, отнюдь не превышает и даже несколько ниже митотического коэффициента нормальных меристем.

Несомненно, что в основе такой деполяризации раковой клетки, являющейся специфической и вследствие этого принципиально важной чертой, лежит глубокая перестройка субстрата всего клеточного тела. Приведенные выше факты и те данные, которые будут излагаться дальше, дают об этом ясное представление. Анализ митоза с точки зрения биологического поля, разрабатывавшийся А. Г. Гурвичем, должен сыграть в понимании специфичности раковой клетки очень большую роль. Именно в связи с этим нужно обратить внимание на присущую раковой клетке мультиполярность хромосомной системы и гиперхромазию, что должно быть связано с повышенной интенсивностью поля в очагах делящихся клеток.

АКТИНИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ МАЛИГНИЗАЦИИ

В основу излагающихся здесь взглядов кладутся следующие предположения: 1) возникновение опухоли в эксперименте под действием канцерогенных веществ рассматривается как прототип ее спонтанного возникновения; 2) в действии канцерогенных веществ решающим является их излучение.

Мы увидим сейчас, что излучение как канцерогенных, так и эндогенного бластомогенного вещества экспериментально показаны.

Излучение канцерогенных и эндогенного веществ. Уже ряд лет тому назад было показано (Н. Н. Каннегисер, 1937), что канцерогенные смолы и углеводороды являются источниками митогенетического излучения, в то

время как близкие к ним по строению, но не канцерогенные вещества не излучают. Положительные результаты были позднее обнаружены на метилхолантрене, бензпирене и дибензантрацене; неканцерогенный антрацен и холестерин не излучают. Для излучения канцерогенных веществ необходим приток кислорода воздуха и активация процесса видимым или инфракрасным светом или подогреванием приблизительно до 40°. Таким образом, излучение связано с постепенным окислением веществ. В дальнейшем было установлено, что и эндогенное бластомогенное вещество излучает за счет медленного окисления (Е. С. Биллиг, 1947, 1959).

Этот факт важен с методической точки зрения. Мы говорили уже о том, что кровь ракового организма теряет вследствие присутствия тушителя способность к излучению. Механизм этого подавления ясен, так как тушитель, препятствуя рекомбинациям радикалов, возникающих при ферментативных процессах, пресекает этим энергетические источники, необходимые для возникновения фотонов. Излучение нормальной крови идет именно за счет энергии рекомбинаций. Содержащееся, однако, в небольшой концентрации в раковой крови эндогенное бластомогенное вещество излучает за счет окисления неферментативного характера. Интенсивность излучения при этом невелика, и без специального концентрирования эндогенного вещества излучение проходит незамеченным при обычных экспозициях даже для чувствительного биологического детектора. Однако осторожное высушивание крови, концентрирующее эндогенное вещество, усиливает интенсивность его излучения. Таким образом, раковая и нормальная кровь ведут себя в жидком и сухом виде противоположным образом — нормальная кровь излучает в жидком состоянии и не излучает в сухом, раковая кровь не излучает в жидком виде и излучает в сухом. В сухом виде излучает также бензольная вытяжка из эндогенного бластомогенного вещества.

Пользуясь этим методическим приемом, Е. С. Биллиг изучила спектры излучения раковой крови (крыса), вытяжки из эндогенного вещества и канцерогена (9,10-диметил, 1,2-бензантрацен). Два первых спектра значительно ближе друг к другу, чем спектр канцерогена (рис. 31, 32).

Результаты спектрального анализа позволили составить представление о том, каким образом эндогенное вещество поддерживается в организме приблизительно на одном уровне. Речь идет, как было показано экспериментально, о его накоплении в организме за счет адекватного субстрата.

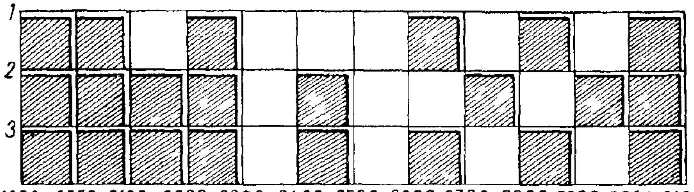


Рис. 31. Спектры излучения различных веществ (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

1 — 9, 10-диметил-/,2-бензантрацен; 2 — кровь крысы: 3 — эндогенное вещество.

Введение мыши эндогенного вещества в такой ничтожной концентрации, которая не обнаруживалась спектрально, вызывало через двое-трое суток излучение крови (высушенной), спектр которого содержал полосы, характерные для эндогенного вещества.

Эти данные позволяли сделать дальнейший шаг и попробовать на модельных опытах выяснить, за счет какого субстрата может идти обогащение эндогенного вещества. Выбор остановился на дезоксихолевой кислоте, он был обоснован данными Л. М. Шабада и его школы, открывшими и исследовавшими эндогенное бластомогенное вещество (1947), и возможностью получения из дезоксихолевой и холевой кислот сильного канцерогенного углеводорода-метилхолантрена (Wieland a. Dahn, Cooke a. Haslewood).

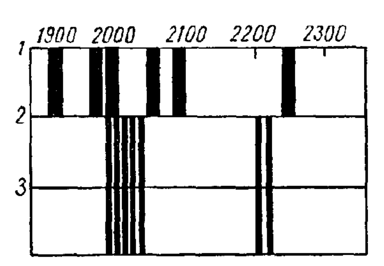


Рис. 32. Более точное расчленение одной спектральной области (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

/ — 9, 10-диметил, 1, 2-бензантрацен; 2 — кровь крысы; 3 — эндогенное вещество.

Опыты проводились по тому же типу, как и при исследовании процесса аутокатализа ферментоидов, т. е. путем последовательных разведений через определенное время выдержки испытуемого вещества в субстрате. Очень малая концентрация эндогенного вещества вносилась в дезоксихолевую кислоту и излучение смеси испытывалось сейчас же и по истечении длительного срока (24-—48 *ч*). Как правило, после выдержки получались положительные результаты. Необходимыми условиями при этом были активация процесса видимым светом и подогрев до 25—30°.

При сопоставлении данных Л. М. Шабада и упомянутых выше авторов можно было думать о близости эндогенного вещества к метилхолантрену. Спектральный анализ излучения обоих веществ (Е. С. Биллиг) показал несомненное сходство спектров.

Дальнейший вопрос был связан с возникновением эндогенного бластомогенного вещества. Представлялось возможным, что под длительным действием митогенетического облучения происходит соответствующая перестройка субстрата. Действительно, дезоксихолевая кислота при длительном облучении (30—40 *ч*) приобретала способность к длительному же высвечиванию. Его спектральный анализ показал ряд полос, совпадающих с полосами эндогенного вещества (Е. С. Биллиг, 1959).

Полученные результаты нуждаются в дальнейшем уточнении, но их принципиальное значение несомненно. Становится понятным длительный (иногда многомесячный) латентный период, протекающий с момента введения канцерогенного вещества до возникновения опухоли. Действительно, ничтожные концентрации излучающего канцерогенного вещества, проникающие в клетки, должны вызвать постепенное возникновение эндогенного бластомогенного вещества, т. е. постепенно усиливая митогенетический внутриклеточный режим привести к тем перестройкам белкового субстрата, о которых мы говорили выше (Н. С. Славина, 1959).

Для доказательства этого предположения производились следующие опыты. Кровь крыс, которым заранее вводились канцерогенные вещества и экстракт из их печени испытывались на излучение в высушенном виде. Положительные результаты позволили провести спектральный анализ, показавший наличие полос, соответ-

ствующих спектру эндогенного вещества (Е. С. Биллиг, 1959) (рис. 33).

Таким образом, введение в организм канцерогенных веществ вызывает постепенное накопление нового излучающего соединения, спектр которого очень близок к спектру эндогенного бластомогенного вещества. Этот процесс идет медленно и им можно объяснить длительность латентного периода.

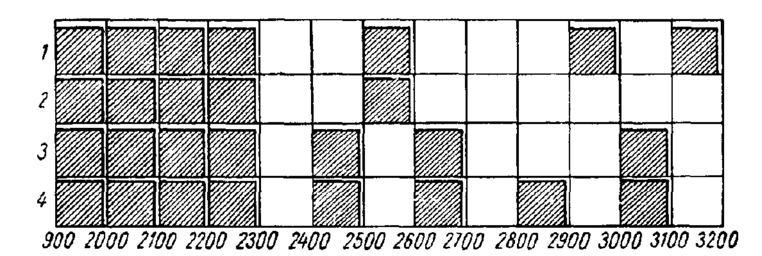


Рис. 33. Спектры излучения (А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959).

1 — бензпирена; *2* — экстракта печени через 66 дней; *3* — через 126 дней после введения бензпирена; *4* — эндогенного вещества.

Одновременно с описанными результатами были получены спектральные данные (Н. И. Брауде, 1959) о наличии эндогенного бластомогенного вещества в клетках самой опухоли. Мы говорили об этом факте в связи с анализом белкового субстрата раковой клетки.

Перейдем к другой, очень существенной группе данных, рассматривающих с разных сторон возникновение и роль тушителя в процессе малигнизации.

ВОЗНИКНОВЕНИЕ ТУШИТЕЛЯ КАК ПЕРВЫЙ ЭТАП МАЛИГНИЗАЦИИ

Многочисленные результаты (Б. С. Песоченский, 1942, 1947), полученные при введении канцерогенных веществ, показали: 1) возникновение тушителя в крови значительно (на несколько месяцев) опережает появление опухоли; 2) при применении вещества, дающего выход меньше, чем в половине случаев, тушитель возникает только у тех животных, у которых в будущем возникает опухоль; 3) перерыв в последовательных аппликациях канцерогенных веществ, приводящий к приостановке

развития, а затем и к уменьшению патологических изменений (полысения кожи), приводит и к последующему исчезновению тушителя из крови животного.

На основании этих ясных и важных результатов были сделаны выводы, имеющие значение не только для практики (вопрос ранней диагностики), но и для общего представления о процессе малигнизации. Представлялось очень вероятным, что возникновение тушителя в организме (крови) нужно рассматривать не только как первый (или один из первых) симптом малигнизации, но и как первый этап этого процесса. В связи с этим вставал вопрос о механизме его возникновения в формирующемся очаге малигнизации. Он получил простое и, по-видимому, однозначное решение благодаря следующим модельным опытам (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1945).

Облучение канцерогенными веществами пептидов и аминокислот, стимулируя сначала излучение этих субстратов, приводит постепенно к возникновению ингибитора, подавляющего излучение и по ряду параметров сходного с тушителем раковой клетки. Катафорез таких «утомленных» облучением растворов показывает, что ингибитор несет подобно тушителю отрицательный заряд. Он способен к самовоспроизведению (аутокатализу) в растворах аминокислот, не диализирует через коллодийную пленку и термолабилен. Спектральный анализ селективного рассеяния указывает на наличие в растворе полос, характерных для лактимной формы пептидной связи.

Таким образом, возникновение тушителя на поверхности малигнизирующейся клетки можно было связать с непрерывным излучением введенных канцерогенных веществ.

Постепенная перестройка клеточной поверхности

При втирании канцерогенных веществ в кожу непосредственное действие оказывается только на герминативный эпителиальный слой, все клетки которого в течение суток, вероятно, делятся. Другими словами, нужно допустить, что результаты действия фотонов передаются, постепенно развиваясь, от поколения **к** поколению.

Модельные опыты на мономолекулярных пленках (А. Д. Браун, 1936, А. Четвериков, 1939; А. А. Гурвич **и** Ф. Энгель, 1936) позволили по аналогии предположить, что поверхности эпителиальных клеток подвергаются при облучении непрерывным нарушениям, распространяющимся отчасти в виде цепных процессов. Медленность всего процесса в целом можно объяснить частичными процессами восстановления, которые в свою очередь могут стимулироваться поглощениями фотонов и тоже носить цепной характер (стимуляция синтеза пептидов действием облучения).

Представим теперь, что возникший локальный очаг нарушения поверхностного слоя клетки заполняется молекулами ферментов, поступающими из внутренних слоев клетки, что никогда не осуществляется при нормальном состоянии клетки. Если допустить, что дальнейшее поступление фотонов стимулирует воспроизведение, т. е. накопление ферментов на поверхности, то это может дать начало принципиальной перестройке клеточной поверхности. Цепной характер этих процессов обеспечивает поддерживание и постепенное увеличение этого очага реорганизации поверхности. Постепенную эволюцию клеточных поверхностей нужно рассматривать как общий процесс, в котором поведения отдельных клеток могут быть, конечно, различны. Предполагаемые процессы должны приводить к тем сдвигам белкового субстрата раковой клетки, которые были описаны Н. С. Славиной.

Целый ряд последующих данных показывает на параллельные изменения белкового субстрата в различных органах, приводящих к возникновению в них тушителя.

Возникновение тушителя в различных органах на ранних этапах малигнизации

Очень раннее появление тушителя в крови по сравнению с возникновением опухоли заставляло думать о том, что тушитель возникает постепенно не только на месте применения канцерогенных веществ, но и в других органах и что его поступление в кровь является уже вторичным процессом (З. В. Малеева, 1959).

Канцероген (9, 10-диметил, 1, 2-бензантрацен) вводился подкожно мышам в виде масляного раствора, что

давало возможность непосредственного наблюдения действия канцерогенного вещества по месту его введения. Определения тушителя начинались через 24 *ч* после введения канцерогенного вещества и повторялись через различные промежутки времени. Проверялось тушащее действие вытяжек из соединительнотканной капсулы и различных органов и наличие в экстрактах из органов спектральных полос, характеризующих лактимную форму пептидной связи.

На четвертые сутки после введения канцерогенного вещества в спектре селективного рассеяния олеомы и печени возникали полосы, характерные для групп R—C=N—R и R—OH, в то время как полосы, соответствующие группе R—C=O, были выражены значительно слабее. Этот рано возникший сдвиг равновесия в сторону лактимной формы пептидной связи был очень стаби-

ТАБЛИЦА 42

Излучение спектра лактимной формы пептидной связи печени и олеомы в различные промежутки времени (14—119 дней) после введения канцерогенного вещества

Объект исследования	Условные обозначения спектральных полос функциональных групп (I, II, III, IV)	Эффекты излучения в %	Экспозиции в секундах
Олеома	I R-C=N-R	33*	15
	II R-C=N-R	32	
	III R-C=N-R	33	
	I R-OH	30	15
	II R-OH	23	
	III R-OH	38	
	IV R-OH	30	
	I R-C=O	14	15
	II R-C=O	15	
Печень	I R-C=N—R	34	15
	II R-C=N- R	32	
	III R-C=N-R	32	
	I R-OH	30	15
	II R-OH	31	
	III R-OH	33	
	IV R-OH	31	
	I R-C=O	16	15
	II R-C=O	12	

* Приведенные числа являются средними значениями из большого числа опытов

лен, т. е. наблюдался во время всего процесса малигнизации (табл. 42).

ТАБЛИЦА 43

Спектр излучения лактимнои формы пептидной связи селезенки в различные! промежутки времени после введения канцерогенного вещества

Условные обозначения спектральных полос функциональных групп (I, II, III, IV)	Излучение в % через		Экспозиции в *сек*
	14—72 дня после введения канцерогена	73-119 дней	
I R-C=N-R	8*	33	15
И R-C=N-R	5	29	
HI R-C=N-R	7	30	
I R-OH	10	38	15
II R-OH	14	40	
III R-OH	7	38	
IV R-OH	4		
I R-C=O	21	14	15
И R-C=O	33	11	

* Приведенные цифры являются средними из большого числа опытов.

Наличие тушителя в крови испытывалось с 5-го по 90-й день после введения канцерогенного вещества. Тушитель обнаруживался начиная с 82—84-го дня.

В селезенке лактимная форма пептидной связи была обнаружена на 76—77-й день после введения канцерогенного вещества, т. е. ее возникновение опережало на несколько дней возникновение тушителя в крови (табл. 43).

В спектрах селективного рассеяния почек и мозга лактимная форма пептидной связи обнаруживалась только после возникновения тушителя в крови, таким образом, она могла быть обусловлена поступлением тушителя из крови в клетки органов.

Значительное опережение в возникновении лактимнои формы в олеоме и в печени по сравнению с возникновением тушителя в крови могло быть как проявлением того, что лактимная форма в этих системах не имеет отношения к тушителю, характеризуя какое-то другое соединение, так и того, что лактимная форма относится к молекуле тушителя, но не свободной, а связанной

с белками клетки, что мешает выходу тушителя в кровь. Для решения этой альтернативы З. В. Малеевой были проведены опыты по аутолизу ткани печени при различных значениях pH. Из литературы известно, что протеазы активны преимущественно при pH=4—4,2, пептидазы — при pH = 6—7.

Тушитель является пептидом, поэтому представлялось вероятным, что аутолиз при pH = 4 отщепит его от белка, не разрушив саму молекулу тушителя; в противоположность этому при pH = 6,5 тушитель будет разрушаться. Такие результаты соответствовали бы связи тушителя с внутриклеточными белками.

Действительно, спектральный анализ экстракта печени показал лактимную форму пептидной связи при pH = 4,1 и ее отсутствие при pH = 6,5 (табл. 44).

ТАБЛИЦА 44

Спектр излучения лактимной формы пептидной связи экстрактов печени и олеомы после 24 *ч* аутолиза

Объект исследования	Условные обозначения спектральных полос функциональных групп (I, П, Ш)	Излучение в % при		Экспозиция в секундах
		pH4,1	pH 6,5	
Печень	1 R-C=N-R	38	5	15
	II R-C=N-R	33	9	
	III R-C=N-R	41	9	
Олеома	1 R-C=N-R	34	7	15
	II R-C=N-R	30	6	
	III R-C=N-R	25	4	

Прибавление соответствующих аутолизатов к излучающим системам дало положительную реакцию (тушение) только в тех аутолизатах, в которых сохранились группы R—C = N—R (табл. 45).

Однозначные результаты З. В. Малеевой не дают ответа на вопрос, откуда тушитель поступает в кровь. Поэтому интерес представляло изучение селезенки, в которой тушитель обнаруживается только за 5—6 дней до того, как он поступает в кровь. Растертая ткань селезенки, содержащая целые и разрушенные клетки, промывалась раствором Рингера и сейчас же после этого подвергалась спектральному анализу селективного рассеяния. Было установлено, что на 76—77-й день после

ТАБЛИЦА 45

Феномен тушения после 24 *к* аутолиза **экстрактов органов животного**

Объект исследования	Излучение в % при		Экспозиция в секундах
	pH-4,1	pH-6,0	
Печень . . .	6	37	15
Олеома . . .	6	29	15
Селезенка . . .	9	37	15

введения в организм канцерогена в такой клеточной суспензии обнаруживаются полосы, характерные для лактимной формы пептидной связи. Через несколько дней такие же промытые клеточные элементы давали и положительную реакцию тушения, совпадающую таким образом по времени с выделением тушителя в кровь.

Представляется вероятным, что возникновение тушителя в крови связано с поступлением из селезенки форменных элементов и их разрушением с отдачей тушителя. Печень не выделяет, связанный, по-видимому, с внутриклеточными белками тушитель, так как возникновение тушителя в печеночной вене отмечалось одновременно с его возникновением в периферической крови.

Эти результаты позволяют предположить, что экзогенное канцерогенное вещество, проникающее в соединительную капсулу олеомы, очень скоро вызывает в ней возникновение излучающего эндогенного бластомогенного вещества и специфическую перестройку внутриклеточных пептидов и белков. В печени эндогенное вещество образуется примерно в те же сроки и по мере повышения концентрации поступает с током крови в селезенку. В высушенном экстракте селезенки полосы, характерные для эндогенного вещества, обнаруживаются спектральным методом на 55—56-й день после введения животному канцерогена Сравнительно позднее возникновение в селезенке эндогенного вещества обуславливает и позднее возникновение в ней тушителя.

Наряду с этими очень интересными исследованиями было экспериментально изучено взаимодействие между возникающим в организме очагом малигнизации и селезенкой (Л И Снешко, 1955). В большом количестве опытов на мышах, которым подкожно вводился канцероген

(9, 10-диметил, -, 2-бензантрацен), у которых в области введения развивалась опухоль, было установлено следующее: 1) на 73—75-й день, как это было уже показано многократно, в крови возникает тушитель. Однако если за несколько дней до применения канцерогена экстирпировать селезенку, то это приводит к значительному изменению картины — опухоль возникает и развивается, но тушитель в крови не образуется (испытание на тушащее действие проводилось до 180-го дня); 2) вместе с тем удаление селезенки в то время, когда тушитель в крови уже возник, не приводит к его исчезновению; 3) однако, если мышам с удаленной селезенкой (без введения канцерогенного вещества) инъецировать подкожно тушитель и потом имплантировать небольшой кусочек селезенки или ввести экстракт из селезенки, то тушитель исчезает из крови. Исчезновение обуславливается связью тушителя с своеобразным антителом — антитушителем.

Эти данные показывают на своеобразное и сложное взаимодействие очага малигнизации и селезенки. Гипотетическое и, конечно, в какой-то степени схематическое представление о связи процессов заключается в следующем. Селезенка под действием канцерогена проявляет как неспецифическую (более пассивную), так и специфическую (более активную) функцию. Постепенное накопление эндогенного вещества в клетках селезенки, приводящее к возникновению в них тушителя, и быстрое выделение тушителя после этого в кровь можно рассматривать как неспецифическую функцию селезенки, так как аналогичные и более быстрые изменения в липоидном обмене и в перестройке белкового субстрата происходят и в печени. Поступление тушителя из селезенки в кровь объясняется ее ролью в процессах кроветворения и в гемолитических процессах.

Наряду с этим селезенка вырабатывает антитушитель или, во всяком случае, способствует его выработке. Этот процесс можно рассматривать как ее специфическую функцию и видеть в нем проявление ее антибластических свойств (Л. И. Снешко, 1955).

На основании большого клинического материала и экспериментальных данных нужно признать, что антитушитель связывает тушитель только в течение короткого времени, так как, как правило, тушитель ясно об-

наруживается в крови. Другими словами, эта специфическая функция селезенки, очевидно, скоро подавляется.

Таким образом, нужно представить следующее: до возникновения устойчивых биохимических сдвигов в будущем очаге малигнизации тушитель поступает в кровь только из селезенки; по мере развития процесса все большее значение приобретает второй источник отдачи тушителя — поверхностный слой раковых клеток. На основании данных Л. И. Снешко можно считать, что селезенка каким-то образом стимулирует переход тушителя из поверхностных слоев клеток в кровь и лимфу.

Экспериментальная основа актинической теории малигнизации в ее отдельных разделах, несомненно, дана. Рассмотрение всего процесса малигнизации как выражение действия одного фактора придает ей принципиальное значение.

Тушитель и антитушитель

Точность, с которой в митогенетической литературе употребляется понятие тушителей излучения, связано с вполне определенным представлением о механизме возникновения митогенетической хемилюминесценции. Последний основан на рекомбинации свободных радикалов и на передаче освобождающейся при этом энергии молекулам субстрата (флуоресцентам), высвечивающим ее в виде ультрафиолетового излучения. Тушитель вступает в первоначальный энергетический акт, т. е., обладая двойной связью, одна из которых легко нарушается, присоединяет к ненасыщенным валентностям свободные радикалы, препятствуя этим их рекомбинации.

Наряду с раковым тушителем, с положительными результатами были испытаны фумаровая и малеиновая кислоты, аргинин и фурфурол.

В первой главе говорилось, что представление о рекомбинациях свободных радикалов как об основном механизме хемилюминесценции вообще, т. е. и видимого свечения, завоевало прочное положение. В связи с этим значительно расширяется список соединений, связывающих радикалы, т. е. тушащих хемилюминесценцию. Широко употребляется, например, сейчас пропиллгалат (С. В. Конев, 1965). Но, очевидно, что подавление излучения и, в частности, митогенетического излучения

может быть достигнуто и другим путем: поглощением возникших, т. е. высвечиваемых флуоресцентами фотонов излучения. Мы предпочитаем употреблять в этом случае термин «гашение», подчеркивая им разницу в механизме устранения излучения. Во втором случае речь идет о чисто физическом явлении, т. е. о задерживании света как бы светофильтрами. Тушители же, включая и раковый, подавляя излучение, тратятся, т. е. необратимо связываются с свободными радикалами[1].

Дальнейшие систематические исследования ингибиторов митогенетического излучения, проводимые в связи с изучением действия на организм некоторых фтористых соединений (промышленные яды), и возможности дифференцировки таких ингибиторов от ракового тушителя показали, что о чистом поглощении излучения речь может идти, по-видимому, очень редко (А. Л. Юделес, Т. И. Казанцева и др., 1943).

Другими словами, такие выраженные поглотители ультрафиолетового излучения, как йод, мышьяк, хинин, оказывают и чисто химическое действие, выключая отдельные звенья окислительных процессов, процессов фосфоролиза и так далее. По мнению авторов, к гасителям в чисто физическом смысле слова может быть отнесена только кремниевая кислота. Выше уже говорилось о том, что фурфурол и, как это было позднее показано, пантапон (А. И. Орлова, 1959) являются и тушителем, и гасителем митогенетического излучения.

Эти разнообразные данные подчеркивают необходимость дальнейшего экспериментального изучения ракового тушителя и с химической точки зрения, и с точки зрения его биологической специфичности.

Ряд фактов в этом отношении, однако, уже прочно установлен. Мы знаем, что тушитель легко отмывается от переживающей опухоли в растворе Рингера и, кроме того, может быть обнаружен в гемолизированной или цитратной крови ракового организма. Его относительное выделение и некоторое накопление адсорбцией на подходящих кристаллах (например, хлористого натрия) и

---

[1] Нельзя исключить того, что при присоединении к молекуле тушителя свободных радикалов часть энергии может высвечиваться с спектром излучения, лежащим в более длинноволновой, чем ультрафиолетовое излучение области.

путем многократных переносов в растворах аминокислот, в которых он самовоспроизводится аналогично тому, как это наблюдается для активных групп ферментов. Однако во время аутокатализа тушителя не возникает вспышка излучения, наблюдающаяся у ферментов.

Освобожденный по возможности от белков крови путем многократных переносов в аминокислотах (преимущественно в гликоколе) тушитель проявляет свойства сравнительно высокомолекулярного пептида. Он не диффундирует через коллодийную пленку, прохождение через которую так же, как введение в клетки, может быть достигнуто только путем электрофореза, и термолабилен. Спектральный анализ селективного рассеяния указывает, как мы знаем, на наличие в его составе лактимной формы пептидной связи. Тушитель заряжен отрицательно и сохраняет свой заряд в широком диапазоне pH. Путем осторожного гидролиза можно отделить от молекулы тушителя активную группу, отличающуюся по своим физико-химическим показателям от нативной молекулы. Она термостабильна, не несет заряда, не самовоспроизводится в аминокислотах и легко проникает в клетки, однако лактимная форма пептидной связи в ней полностью сохраняется.

Одно из наиболее интересных свойств нативного ракового тушителя — способность к принципиально неограеиченному воспроизведению — находит несомненную аналогию в следующих очень интересных данных. В крови животных с трансплантированными и спонтанными опухолями обнаружен фактор, вызывающий при введении его здоровому животному резкое повышение активности лактикодегидразы крови. Эффект развивается в течение 48 *ч* и не исчезает при многократно повторяемых введениях от предыдущего животного (донора) последующему .животному (реципиенту) (Riley, 1960).

Обнаруженный фактор термолабилен, не проходит через целлофановую пленку, но проходит через бактериальные фильтры. Его примерный молекулярный вес определяется автором в 20 000. Специфичность этого (фактора для малигнизирующихся тканей очень интересна и Riley правильно указывает на то, что обнаруженное им явление может иметь диагностическое значение. Как известно, аналогичное предположение, подтвердившееся

затем на большом клиническом материале, было сделано после обнаружения ракового тушителя (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1937, 1938, 1940; А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, С. Я. Залкинд, Б. С. Песоченский, 1947).

Но и сам факт подтверждения еще на одном веществе пептидной природы принципа неограниченного размножения за счет адекватного субстрата представляет, с нашей точки зрения, принципиальный интерес.

Остановимся коротко на вопросе о видовой специфичности тушителя. Указывающие на это факты таковы: введенный подкожно тушитель самовоспроизводится (аутокатализирует) только в организме того же вида. Так, например, тушитель крови мыши не аутокатализирует в организме крысы и наоборот. Модельные опыты, в которых субстратом для аутокатализа являлся серум крови, показали, что аутокатализ идет только в серуме того же вида животного.

В главе о клеточном делении описывалось, что прибавление тушителя к культуре дрожжей в жидкой питательной среде временно подавляет и излучение, и размножение культуры. При этом был установлен также и следующий важный факт — повторное прибавление тушителя проходило уже безрезультатно (С. Я- Залкинд, 1950). Представлялось очень вероятным, что в дрожжевой культуре возникает вещество, инактивирующее тушитель и создающее условия своеобразного иммунитета. Совершенно естественной была связь этих данных с изучавшейся уже в это время проблемой антитушителя (С. Я. Залкинд, 1950).

Исследования крови мышей, которым систематически вводился тушитель и у которых вследствие этого вырабатывался антитушитель, пополнили характеристику антитушителя. Антитушитель отличается от тушителя рядом свойств. Он относится, по-видимому, к низкомолекулярным соединениям, так как не инактивируется при нагревании до 80° и даже при коротком кипячении, несет положительный заряд и поэтому может быть отделен при помощи катафореза от тушителя, не аутокатализирует в растворах аминокислот, передается потомству с молоком матери.

Дальнейшее экспериментальное изучение антитушителя и выяснение вопроса о выработке его селезенкой представляет большой интерес.

Заключение

Со времени последнего монографического изложения проблемы митогенеза прошло девять лет (A. G. Gurwitsch и L. D. Gurwitsch, Jena, 1959), у нас в стране последняя монография А. Г. Гурвича и Л. Д. Гурвич вышла в 1948 г. (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1948).

Такие большие интервалы времени дают возможность проследить в заключении степень преемственности в постановке целей и задач и вместе с тем ход развития, вносящий в эти задачи нечто новое.

Выходившие монографии содержали каждый раз главы, посвященные различным вопросам биологии, физиологии, патологии, биохимии. Таково же содержание и этой книги. На первый взгляд такие обзоры поражают отсутствием связи между отдельными проблемами. Это впечатление, однако, верно только отчасти, так как в характере трактовки отдельных проблем есть очень существенный общий корень и мы думаем, что он уже стал (и будет становиться) все более доминирующим. Другими словами, несмотря на разнообразие явлений, изучаемых методом излучения, митогенез имеет в молекулярно-биологических и биофизических областях науки свой тип построения и этим определяются стоящие задачи.

Вспомним еще раз мысль А. Г. Гурвича о том, что реальными и существенными в живых системах являются многочленные процессы: «Если даже в огромном большинстве случаев мы не можем сформулировать их отдельные звенья, многочленность тех процессов, которые мы как бы инстинктивно воспринимаем как жизненные проявления, не подлежит сомнению»[1]. Все митогенетические данные не только иллюстрируют это представление, но углубляют понимание отдельных звеньев и связи между ними.

Значение больших квантов энергии (фотонов митогенетического излучения), приводящих к возникновению и широкому распространению в живых системах цепных

[1] Из неопубликованных материалов А, Г. Гурвича.

процессов, проходит основным стержнем через все построения, показывая как часто одиночные элементарные акты имеют далеко идущие многочисленные последствия. Дальнейший анализ, с этой точки зрения, значения излучения для клеточного деления, установление связи химических и излучающих (физических) звеньев этого многочленного процесса представляют большой интерес. Вместе с тем, тесно связанными со сказанным и дающими, как нам кажется, наиболее широкие перспективы для развития всей проблемы митогенеза являются представления А. Г. Гурвича о неравновесно-упорядоченном состоянии молекулярного субстрата живых систем. Они объединяют энергетическое и информационное значение излучения, т. е. применение его для анализа энергетических и стерических состояний субстрата. Многое на этом широком пути исследования выяснено, многое ждет дальнейшего изучения, выбор однозначных постановок вопросов не является легким, но характер общих предпосылок ясен, и именно он определяет ту основную преемственность исследований, о которой говорилось вначале.

Необходимо непрерывное учитывание сопряженной связи различных уровней биологического анализа, т. е. анализ данных, получаемых на молекулярном уровне, должен в значительной степени координироваться представлениями о «работающем» целом. Для этого микроскопические и молекулярные уровни исследований должны иметь элементы конструктивности, т. е. включать и гипотетические звенья, соответствующие биологической характеристике целого.

Анализируя ряд лет тому назад гистологические данные, А. Г. Гурвич ввел понятие «конструктивной» гистологии и рассматривал его как «гистологические основы биологии» («Die histologischen Grundlangen der Biologie, Jena, 1930). В этом же смысле нужно говорить о «конструктивных молекулярных основах» биологии. Концепция неравновесно-упорядоченного состояния молекулярного субстрата живых систем, опирающаяся на большую фактическую основу, дает этому начало. С этой точки зрения является перспективным анализ обратимых (физиологических) процессов, давший уже ряд результатов.

ПРИЛОЖЕНИЕ

МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Любые исследования в области митогенеза связаны с необходимостью детекции излучения. Основным рабочим методом являлся и является сейчас биологический метод регистрации излучения, основанный на стимуляции клеточных делений. Наиболее удобным в смысле постоянства результатов и сравнительной простоты работы оказалось применение в качестве биодетектора дрожжевой культуры. Мы думаем, что описание методики работы с этим детектором будет полезным и в этой книге, хотя и в отдельных экспериментальных работах и в монографиях, дающих обзор всей проблемы, техника применения дрожжевого детектора давалась уже во всей полноте (А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, 1945, 1959).

Вторая часть этой главы будет посвящена описанию физического метода регистрации излучения. Применению в качестве физического приемника так называемых счетчиков фотонов был посвящен между 1930—1940 гг. ряд исследований, описанных также в отдельных работах и в обзорах. Мы еще раз приведем главнейшие из них. За последние годы все реальнее вырисовывается возможность применения фотоэлектронных умножителей как рабочего метода для исследования ряда задач. На описании установок, полученных результатах и возможных перспективах этого направления работы мы остановимся достаточно подробно.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЕТЕКЦИИ ИЗЛУЧЕНИЯ

Употребляемые в основном культуры винных дрожжей (мускат, шабли) культивируются по обычной микробиологической технике, на косом агаре (2% агар на пивном сусле 8—9 баллингов), пересевы производятся раз в месяц. Посев культуральных (2-недельного возраста и старше) в сусло (18 баллингов) производится каждую неделю. Брожение в таких жидких штаммах заканчивается при 27—28° на третьи сутки, после чего на дне пробирки скапливается обильный дрожжевой осадок. Последующие дни жидкий, так же как и косой, штаммы сохраняются при комнатной температуре. Готовый жидкий штамм взбалтывается и дрожжевой суспензией заливается поверхность агара в чашке Петри (1,5—2% агара в 18-баллинговом сусле), некоторый избыток суспензии оставляется. Густой белый налет дрожжевых клеток, образующийся через двое суток (при 27—28°), является так называемым рабочим штаммом, с которого уже производится посев культур-детекторов.

Для этого с рабочего штамма снимается стеклянной палочкой некоторое количество налета, которое тщательно растирается в прокипяченной охлажденной водопроводной воде Такой (не густой) дрожжевой суспензией заливается поверхность агара в чашке Петри

(агар и сусло той же концентрации). После равномерного покачивания в течение нескольких минут избыток жидкости тщательно оттягивается и чашка оставляется при комнатной температуре в темноте в слегка наклонном положении примерно на 10 *ч.* За это время нарастает тонкий равномерный (что является обязательным условием) дрожжевой налет, состоящий из 30—40 клеточных слоев. Он пригоден как детектор излучения. Непосредственно перед опытами из середины чашки вырезается несколько кусочков (блоков), которые благодаря толщине агара могут быть легко поставлены на бок (наиболее удобное для опыта положение). В качестве детектора и контроля берутся соседние блоки, детектор располагается на расстоянии, приблизительно, 5 *мм* от источника излучения, контроль рядом, но так, чтобы излучение не могло на него попасть. Во время опытов в комнате должно быть неяркое дневное освещение.

Обязательным является практически достижимое отсутствие ультрафиолетового света (закрытые окна, отсутствие электрического освещения, газовых горелок и т. д.). После экспозиций, длящихся в зависимости от интенсивности источника от нескольких секунд до нескольких десятков секунд, блоки помещаются на 5—8 *мин* в закрытую чашку Петри. За это время возникает первая волна добавочных почкований, в том случае, если детектор поглотил добавочные фотоны. Затем с детектора и контроля петлей или стеклянной палочкой снимается вся толщина дрожжевого налета и переносится в каплю 10% формалина на предметное стекло, обезжиренное и покрытое ничтожным слоем белка с глицерином. Взвесь тщательно растирается по всей поверхности стекла, мазок подсушивается при комнатной температуре, фиксируется над пламенем спиртовки и окрашивается подходящим красителем (метиленовая синька или кристалл-виолет).

При хорошем качестве препарата (чистый фон, достаточная окраска, достаточная густота и, вместе с тем, хорошее распределение клеток) подсчет с иммерсионной системой маленьких почек (отношение площади почки к площади материнской клетки приблизительно 1/10) является легко достижимым. Почки более крупного размера считаются за взрослые клетки. Реальные числовые соотношения маленьких почек к взрослым клеткам выясняются, как правило, уже при подсчете 2000 взрослых клеток. Обязательным при этом является учет клеток из разных мест препарата.

У различных лиц вырабатываются индивидуальные оценки отношения почки/клетки, которых счетчики без труда придерживаются.

Получаемые конкретные числа видны из приводимых ниже таблиц. Колебания чисел, получаемых на различных блоках, показывают погрешность метода, укладывающуюся в 10—12%. Превышение числа маленьких почек на детекторе относительно контроля на 15% и выше указывает уже на начало реального митогенетического эффекта, особенно при воспроизводимых данных[1]. Статистически вычисляется вероятная ошибка числа почек на детекторе и контроле

---

[1] $\frac{D-K}{K} \cdot 100$, где Д — число почек на детекторе, К — на контроле.

отдельно по формуле*

$$P = 0{,}67\sqrt{\frac{\Sigma\sigma^2}{a\,(n-1)}}\,,$$

где $\Sigma\delta^2$ = сумма квадратических отклонений от средней; n — число сотен взрослых клеток. Вероятная ошибка эффекта =

$$= \sqrt{P^2 \text{ детектора } + P^2 \text{ контроля}}.$$

ТАБЛИЦА 46

Степень реальности полученных результатов

Опыт № 1		Опыт № 2		Опыт № 3	
контроль	детектор	контроль	детектор	контроль	детектор
5	9	5	6	2	5
5	4	3	4	3	4
2	6	3	4	9	2
5	3	3	8	2	6
4	5	4	5	2	3
Всего: 21	27	18	27	18	20
3	6	5	7	3	3
4	8	3	6	5	5
10	4	4	5	6	2
7	5	4	6	6	4
3	3	1	7	2	4
Всего: 27	26	17	31	22	18
2	9	6	5	5	2
2	6	2	4	1	4
7	5	4	3	4	5
4	5	3	2	6	5
2	8	4	5	3	5
Всего: 17	33	19	19	19	21
3	4	3	7	5	3
3	3	3	9	6	6
2	4	3	7	4	3
5	6	4	6	6	6
7	7	6	9	5	5
Всего: 20	24	19	38	26	23
Итого: 85	110	74	115	85	82

Примечание. Среднее число почек на 100 клеток и вероятная ошибка чисел составляли: для опыта № 1: 4,25±0,33; 5,5±0,27; для опыта № 2; 3,7±0,16; 5.75±0,28; для опыта № 3: 4,25; 4,1. Вероятная ошибка эффектов составляла: для опыта № 1: 1,25±0,43 при отношении 2,9; для опыта № *2:* 2.05±0,32 при отношении 6,4; для опыта № 3: 0,15.

Эффект считается вполне реальным, если разница между детектором и контролем превышает вероятную ошибку в три раза.

Приведем в качестве примеров три опыта, из которых в одном разница между контролем и детектором лежит в пределах погрешности метода и в двух положительные результаты различной степени достоверности (табл. 46).

Выше уже говорилось об обязательности выбора соседних участков в рабочей чашке для детекторных и контрольных блоков. На примере конкретного полностью приведенного материала показан характер результатов, позволяющий с полной уверенностью судить о наличии спектральной полосы, высвечиваемой группой R—NH2 (табл. 47), при определенных условиях и ее отсутствии при других условиях. В таблице ясно видны две группы: одна, охватывающая разницу между —10% и +10%, соответствующая другими словами установленной погрешности метода, и вторая группа, охватывающая результаты между 20 и 55%, относящаяся, таким образом, к ясно выраженным митогенетическим эффектам. Числа между 10% и 20% встречаются значительно реже и составляют только 12% от всего материала.

Таким образом, при тщательном выборе из рабочей чашки детекторных и контрольных блоков получаются вполне однозначные результаты.

ТАБЛИЦА 47

Изучение спектральной полосы, характеризующей группу $R—NH_2$ (распределение эффектов)

Разница в % между детектором и контролем	Число опытов	Разница в % между детектором и контролем	Число опытов
—10——5	13	21—30	42
—4-0	22	31—40	41
0——5	30	41—45	15
6—10	19	46—50	6
Всего ...	97	51—55	13
11—15	14		
16—20	15		
Всего ...	29	Всего ...	117

Дрожжевой детектор представляет многослойную клеточную пленку, характеристика клеток которой, если их рассматривать по слоям, различна. Внешние слои состоят из старых, неспособных к делению клеток, наиболее внутренние, т. е. близкие к питательной среде, являются наиболее молодыми интенсивно делящимися и излучающими клетками; средние слои способны к делениям, но ритм почкования и излучение у них понижены. Специальные исследования,

проведенные уже ряд лет тому назад (М. А. Барон, 1934), показали, что митогенетический эффект проявляется именно в этих слоях. Фотоны, попадающие на детектор извне, поглощаются внешними слоями и вызывают в них хорошо выраженное вторичное излучение, доходящее с несколько нарастающей интенсивностью до средних слоев. Полная воспроизводимость результатов при работе с дрожжевым детектором на твердой питательной среде обуславливается именно этой закономерной послойной структурой дрожжевой пленки. Вторичное излучение поверхностных клеток, играющее роль усилителя и распространяющееся в более глубокие слои и по поверхности, объясняет способность детектора отвечать значительным числом клеточных делений в ответ на поглощение очень небольшого числа фотонов. Именно это свойство детектора делает возможным спектральный анализ, связанный, конечно, со значительным ослаблением интенсивности излучения.

Оценка интенсивности излучения при работе с дрожжевым детектором основана на сравнении пороговых экспозиций. Специально поставленные эксперименты (Д. М. Шуб, 1959) показали, что в диапазоне митогенетических интенсивностей, относящихся друг к другу приблизительно как 1/10, соблюдается зависимость I*t=const., где I — интенсивность и *t* — время. Другими словами, чем больше интенсивность излучения, тем меньшую экспозицию нужно брать. Речь идет, таким образом, об относительной оценке интенсивностей; возможность абсолютных измерений дают физические приемники излучения, о чем мы скажем дальше.

ФИЗИЧЕСКИЙ МЕТОД РЕГИСТРАЦИИ ИЗЛУЧЕНИЯ

Ряд авторов в 1930—1940-е годы для регистрации митогенетического излучения применяли высокочувствительные счетчики фотонов.

Первые успешные опыты в этом направлении, проделанные Rajewsky (1931), были вскоре подтверждены Г. М. Франком и Родионовым (1931). Несколько позднее были получены многочисленные положительные результаты от различных химических и биологических источников (Barth, 1934, 1935, 1936, 1937, 1939; Siebert.

ТАБЛИЦА 48

Регистрация излучения на счетчиках фотонов
{по данным Barth)

Система	Число импульсов при облучении счетчика	Число темновых импульсов	Эффект излучения в %
Фибрин + трипсин	1446	1131	28
То же	2182	1577	39
Фибрин + вода	1415	1382	2
Вюричное излучение глюкозы	2589	1960	32

Примечание. Приводятся числа отчетов за длительное время.

Seffert, 1936, 193?, 1939; Andubert, 1938, 1939; Grebe, Krost, Peukert, 1937).

Мы приведем отдельные примеры из работ Barth, представляющие, кроме безукоризненной методики, большой интерес еще и в том смысле, что в них ясно регистрировалось вторичное излучение глюкозы, и из работ Grebe, Krost и Peukert, изучавших биологические объекты (табл. 48, 49).

ТАБЛИЦА 49

Регистрация излучения за короткие промежутки времени
(по данным Grebe, Krost, Peukert, 1937)

Объект	Число импульсов при облучении счетчика	Число темновых импульсов	Эффект излучения в %
Проростки подсолнуха	41	26	
» »	43	28	
» »	47	26	62 (среднее)
» »	39	26	
» »	39	25	
Корни подсолнуха	72	26	
» »	69	30	
» »	76	30	159 (среднее)
» »	78	28	
Изолированное сердце лягушки при постепенном урежении ритма	70	24	192
То же	77	26	196
» »	70	24	192
» »	51	19	168
» »	34	23	48
» »	25	22	14

Приведенные цифры указывают с полной ясностью на возможность регистрации митогенетического излучения при помощи высокочувствительных счетчиков фотонов. Здесь уместно и интересно остановиться на той экспериментальной работе, которую проделали Barth и М. В. Филиппов (М. В. Филиппов, 1939), анализируя неудачные попытки регистрации излучения, опубликованные рядом других авторов (Schreiber, Friednch, 1930; Lorenz, 1934; Kreuchen, Bateman, 1934; Hollaender a. Claus, 1937). Почти каждая работа, в которой не удалось установить излучения, может, как пишет Barth, быть подвергнута существенной критике как с биологической точки зрения (неудачный подбор источников излучения), так и с точки зрения техники проведения физического эксперимента. Именно в связи с этим последним вопросом авторы проделали ряд тщательных параллельных измерений чувствительности счетчика и возможности получения на данном счетчике эффекта от сравнительно постоянного

источника митогенетического излучения[1]. В случае корреляции между чувствительностью счетчика и возможностью получения на нем положительного эффекта вопрос о причине отрицательных результатов был бы решен с достаточной степенью однозначности.

Источником митогёнётического излучения служила хорошо изученная окислительная реакция, возникающая при соединении сернокислого железа с бихроматом калия в присутствии серной кислоты. М. В. Филиппов провел ряд измерений со счетчиками, имеющими алюминиевый и медный фотокатоды. Было установлено (особенно ясно на медных катодах), что «хорошие», т. е реагирующие на излучение, счетчики вчетверо чувствительнее «плохих» счетчиков в области коротких длин волн (2144 и 2195 Å) и примерно вдвое чувствительнее в области средних волн (2265 и 2318Å) (табл. 50).

ТАБЛИЦА 50

Сравнение чувствительности счетчиков и полученных, на них результатов при измерении излучения окислительной системы

Порядковые номера счетчиков	Излучение системы в %	Числа импульсов при освещении катода искрой при длине волн				Катоды
		2144 Å	2195 Å	2265 Å	2318 Å	
1	28	38±4	62 ±15,4	155±31	79±18	Алюминий
2	23	32±4	61±5	170±33	92 ±19	
3	17	32±4	91 ±17	231 ±39	192 ±35	
4	21	23±3	54±6	160 ±25	193±44	»
5	1	8±2	17±3	126 ±23	83±16	
6	- 6	6±0,8	5 ±0,7	20±2	14±1,5	Медь
7	19	22±3	30±4	51±5	31±4	»
8	29	22±3	33±4	38±4	28±3	»
9	3	9±1,6	19±2,5	31±4	30±3	»

Данные, приведенные в табл. 50, дают вполне удовлетворительное объяснение тому отсутствию результатов, которое получалось у авторов, недостаточно тщательно относящихся к калибровке чувствительности счетчиков. Действительно, если на достаточно хороших счетчиках средний эффект выражался 20—25% с средней ошибкой в 7—8%, то при работе с счетчиками, чувствительность которых была в 3—4 раза ниже, вероятность получения положительного результата была, конечно, ничтожна

Необходимость точного определения чувствительности счетчиков подчеркивает также Audubert (1938), который провел со своими сотрудниками обширные исследования различных излучающих систем Помимо химических реакций, в основном реакций окисления, его исследованиями были подтверждены полученные ранее биологи-

[1] Чувствительность измерялась по четырем спектральным линиям, выделенным из очень ослабленного (близкого к митогенетической интенсивности) искрового промежутка кадмиевых электродов.

ческим методом результаты по излучению раздражаемого нерва и развивающихся яиц амфибий на стадии гаструлы (Audubert, Levy, 1935). Подбирая счетчики, катоды которых обладали разной степенью чувствительности к различным областям ультрафиолетового излучения, Audubert смог произвести нечто вроде грубого спектрального анализа, показавшего, что изучавшиеся им объекты излучали именно в диапазоне между 2000—3000 Å.

Положительные результаты с счетчиками фотонов были получены и после 50-х годов, когда стали шире применяться самогасящие газовые счетчики с золотым и платиновым фотокатодами. Именно таким методом зарегистрировано сверхслабое ультрафиолетовое излучение от культур тканей Becher (1952) и крови (Becher, 1957). Ряд положительных результатов установлен на счетчиках с платиновыми фотокатодами, собственный фон которых был снижен путем применения схемы антисовпадений (Н. А. Троицкий, С. Конев, М. Катибников, 1961). В качестве объектов излучения изучались растущая культура дрожжевых клеток, сокращающееся сердце лягушки, раздробленная мышца лягушки и соцветие одуванчика, высвечивающего, по-видимому, энергию, накапливающуюся после пребывания растения на солнечном свете (предварительное пребывание одуванчика в затемненных условиях не приводило к последующему излучению).

Мы остановились довольно подробно на изложении результатов, полученных со счетчиками фотонов, желая подчеркнуть, насколько однозначно вопрос о регистрации митогенетического излучения физическим методом был решен уже ряд лет тому назад. Этими исследованиями был также определен и порядок интенсивности излучения, оцениваемый большинством авторов в несколько тысяч фотонов с квадратного сантиметра излучающей поверхности в 1 *сек*.

Задача, стоящая в настоящее время, отличается от предыдущей фазы работы: дальнейшее накопление фактов, показывающих возможность применения физического приемника излучения, является уже не самоцелью, а связано с разработкой метода регистрации, которым можно было бы пользоваться параллельно с методом биодетекции излучения.

В качестве приемника излучения применяются сейчас фотоэлектронные умножители (ФЭУ).

Работа в нашей лаборатории проводилась сначала на малошумящих экспериментальных образцах фотоумножителей типа ФЭУ-42 (Н. Хлебников, А. Е. Меламид, Т. А. Ковалева, 1962), не нуждающихся, таким образом, в охлаждении. Темновой фон достигал при комнатной температуре 25—30 импульсов в 1 *сек*. Сурьмяноцезиевый катод и увиолевое окно позволяли регистрировать, наряду с видимой частью спектра, и ультрафиолетовую область, правда не во всем диапазоне, так как короче 2300А увиоль (сравнительно толстое окно) не является уже прозрачным. Измерения производились в режиме счета фотонов, обеспечивающем наибольшую чувствительность. Импульсы усиливались широкополосным усилителем УШ-2 и поступали на пересчетное устройство ПС-10 000. Установка данного типа подходила для измерения сигналов, значительно превышающих темновой фон. Ввиду этого в качестве первого объекта изучения была выбрана реакция окисления гликокола перекисью водорода, наличие митогенетического излучения при которой было

установлено раньше с помощью дрожжевого детектора и которая протекает в течение длительного времени с довольно большой интенсивностью (А. А. Гурвич, В Ф Еремеев, Ю. А. Карабчиевский, 1965). Кювета, содержащая реагирующую смесь, опускалась при помощи специального приспособления в полной темноте на окно ФЭУ, оптический контакт с которым осуществлялся через силиконовое масло. Измерения производились поочередно в кварцевой и

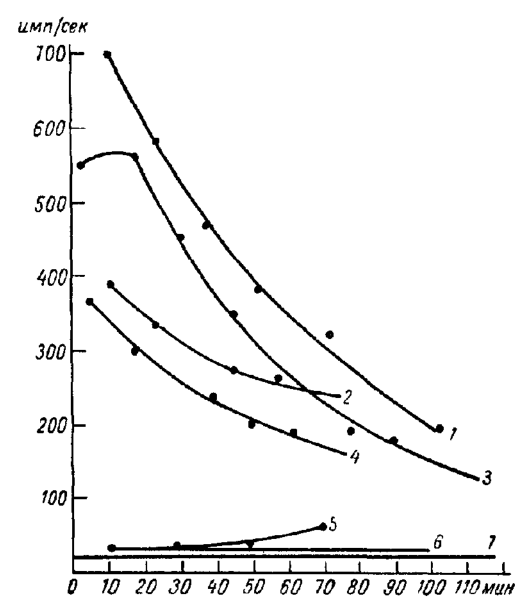


Рис. 34. Кривые излучения гликокол + H_2O_2, измеренные на фотоэлектронном умножителе (ФЭУ) (А. А. Гурвич, В. Ф. Еремеев, Ю. А. Карабчиевский, 1965).

1, 2 — ультрафиолетовое излучение при двух концентрациях гликокола; *3, 4* — видимое излучение при тех же концентрациях: *5* — чистая H_2O_2; 6 — чистый гликокол; 7 — шумы ФЭУ.

стеклянной кюветах (10 замеров по 10 *сек* каждый) в течение полутора часов. Несколько раз в течение общего времени проверялась стабильность фона.

Число импульсов полезного сигнала превышает в среднем в 10 раз число темновых импульсов. Сигнальные импульсы, как показали чередующиеся в кварце и стекле измерения, включали, наряду с видимой, и ультрафиолетовую компоненту, так как число импульсов в кварцевой кювете превышало число импульсов в стеклянной (рис 34). Более или менее параллельный ход кривых, характеризующих ультрафиолетовую и видимую слагаемые, говорит при данных

условиях опыта об уменьшении интенсивности видимого излучения и о более постепенном ослаблении ультрафиолетовой слагаемой. Квантовый выход фотокатода в различных спектральных областях позволял дать количественную оценку интенсивности излучения ультрафиолетовой и видимой компонент В начале реакции интенсивность равнялась соответственно 10 000 и 20 000 фотонов *см²/сек,* к концу измерений ультрафиолетовое излучение ослаблялось приблизительно вдвое, видимое — примерно в три раза.

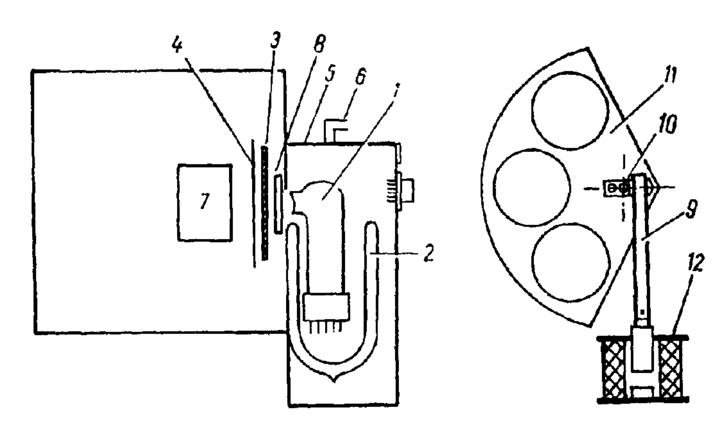


Рис. 35. Схема установки с ФЭУ.

1 —ФЭУ; 2 — Дюар с жидким азотом, 3 —заслонка: *4* — секториальная заслонка, изображенная отдельно; 5—кожух; *6* — отвод для паров азота; 7 —излучающий объект; *8* — кварцевое окно; 9—шток; *10* — кривошип; *11* — сектор с отверстиями; *12* — соленоид.

Для измерения более слабых, т. е. соизмеримых с темновым фоном сигналом, применяется фотоумножитель ФЭУ 18-А, охлаждаемый жидким азотом. Простая методика охлаждения заимствована нами из работы С. В. Конева с сотрудниками (С. В. Конев, Т. И. Лескова, Г. О. Нисенбаум, 1965), успешно применяющими ее в течение последних лет для измерения митогенетического излучения синхронизированной культуры дрожжей [1].

Корпус умножителя помещается в стеклянный дюар, наполненный жидким азотом. Патрубок с увиолевым окном возвышается над краем дюара; испаряющийся азот отводится из кожуха через отверстие, соединенное с изгибающейся трубкой, обеспечивающей светонепроницаемость. Охлаждение металлического фотокатода (сурьмяноцезиевый катод) и диодов производится, таким образом, через штырьки цоколя и траверзы ФЭУ. При этом темновой фон снижается на 2—3 порядка, достигая в некоторых ФЭУ 1—1,5 импульсов в 1 *сек.* Температура окна умножителя сохраняется положительной, поэтому ни само окно, ни кварцевая пластинка,

[1] Существо полученных авторами результатов изложено нами в главе о клеточном делении.

герметически закрывающая отверстие между кожухом фотоумножителя и камерой, в которую помещен изучаемый объект, не запотевают. Кожух и камера соединяются через кварц только при измерениях. Во время предварительной установки объекта, также как и во все остальное время, они отделены вдвигающейся эбонитовой перегородкой. В нашей установке между объектом и кварцевым окном помещается еще подвижная дополнительная заслонка, имеющая вид сектора с отверстиями, которые могут быть закрыты кварцем, стеклом, светофильтрами и черной бумагой Изменения положения заслонки производятся с помощью соленоида, штока и кривошипа (рис. 35). Включение и выключение соленоида производится во время эксперимента через каждые 10 *сек,* наиболее простой вариант, заключается в смене открытого и закрытого окна сектора, т. е. в измерении темнового фона и фона+ рабочие импульсы. Процесс измерения сводится к статистическому накоплению разности этих величин, т. е. эффектов.

В качестве примера приводится один из замеров опыта по измерению излучения синхронизированной культуры дрожжей, в котором реальность превышения эффекта по сравнению с фоном подтверждена статистической обработкой, что для сравнительно небольших разниц является, конечно, обязательным (табл. 51).

ТАБЛИЦА 51

Числа импульсов за 10 *сек,* характеризующие фон и фон + эффект

МгN№ замеров	Фон	Фон+эффект
1	11	20
2	12	17
3	14	23
4	7	12
5	7	20
6	13	14
7	12	18
8	10	22
9	12	18
10	7	19
Средние	10,5	18,3

Значимость полученного результата определяется по широко употребляемому критерию Стьюдента, в котором берется отношение разности средних к среднему квадратичному отклонению. В данном случае разность средних m = 7,8, среднее квадратичное σ=1,36, т.е. отношение m : o = t = 7 , 8 : 1,36=5,73. Данное отношение по табличным значениям означает, что уровень значимости, или степень достоверности результата, превышает 99,9%, т. е. является полной.

Таким образом, тщательно смонтированная и выверенная установка, в которой физическим приемником является фотоумножитель,

темноьой фон которого снижен охлаждением, является достаточно чувствительной для измерения митогенетического излучения. Работа в этом направлении продолжается, и мы считаем вполне реальной возможность применения физической регистрации излучения в более широком масштабе. Вместе с тем, для нас является несомненным, что дальнейшее плодотворное развитие проблемы митогенетического излучения возможно только при использовании и биологической, и физической методик исследования. Неоспоримым преимуществом биологического детектора является его чувствительность, превышающая, во всяком случае в настоящее время, чувствительность физических приемников на 1,5—2 порядка и позволяющая поэтому применение столь необходимого спектрального анализа излучения. Несомненным положительным качеством физического метода является возможность количественной оценки интенсивности и регистрация, наряду с ультрафиолетовым и видимого излучения. Митогенетические данные могут быть таким образом связаны с общими явлениями хемилюминесценции. Биологическое значение спонтанного сверхслабого свечения в видимой области может стать при этом значительно яснее.

ЛИТЕРАТУРА

Анохин П. К. Проблемы центра н периферии. Горький, 1935.
Аршавский И. А. Изв. АН СССР, сер. биол., 1958, 1, 71.
Варон М. А. Naturwiss., 1929, 17, 54.
Congr. Int. Ellectroradiobiol., 1934, 2, 751.
Бауэр Э. С. Теоретическая биология. Л., 1934.
Бахромеев И. Р. Biochem., Z. 1935, 282, 3—4, 257.
Белов Г. Н. Ann. Physiol. Physicochim. biol., 1938, 14, 3.
Белоусов Л. В. В сб.: Физические и химич. основы жизненных явлений. М., 1963.
Биллиг Е. С. Цит. по А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1945.
Биллиг Е. С. В сб. работ по митогенезу и теории биологич. поля. 1947. Цит. по А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959.
Бляхер Л. Я. Arch. Entwickl. Mech., 1930, 122, 148. Зоол. журн., 1932, 11, 2.
Брайнес С.Н. Арх. биол. наук, 1934, 36, 1, J. Nerv. Ment. Dis., 1937, 86, 24.
Брауде Н. И. Цит. по А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, 1959.
Браун А. Д. Protoplasma, 1936, 26, 338.
Браунштейн А. Е. и Потоцкая А. П. Арх. биол. наук, 1934, 35, 73.
Букатина А. А. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1938, 5, 1.
Васильева И. П. Цит. по А. Г. Гурвич, 1945.
Васильев Р. Ф. и др. Биолюминесценция, 1965.
Васильев Р. Ф., Вичутинский А. А. Nature. 1962, 194, 1276.
Владимирская М. А. Цит. по А. Г. Гурвич, 1945.
Голдовский В. Усп. совр. биол., 1955, 10, 3.
Гордон Е. А. Acta Physicochim. USSR, 1940, 13, 393.
Гурвич А. А. Арх. биол. наук, 1934, 35, 2.
Гурвич А. А., Энгель Ф. Л. Protoplasma, 1936, 26, 331.
Гурвич А. А. Ann. Physiol. et Physicochim. biol., 1938, 24, 2. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1960, 10, 82, 1961, 5, 68.
Гурвич А. А. и др. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1961, 4, 57.
Гурвич А. А. и др. Nature, 1965, 206, Apr. 3.
Гурвич А. Г. Arch. Entwickl. Mech., 1911, 32, 447; Biol. Zbl., 1912, 32, 458; Arch. Entwickl. Mech., 1914, 39, 516; 1922, 51, 383; 1929, 116, IT; Die histologjschen Grundlagen der Biologie. Jena, 1930. Теория биологического поля. 1944.
Гурвич А. Г., Гурвич А. А. Enzymologia, 1958; Цит. по А. Г. Гурвич, 1959.
Гурвич А. Г., Гурвич Л. Д. Митогенетический анализ биологии раковой клетки. Л., 1937; Enzymologia, 1938, 5, 26; Acta Physicochim., USSR, 1939, 10, 711; Арх. биол. наук, 1940, 56, 3; Митогенетическое излучение. М., 1945; Enzymologia, 1947, 12, Fasc. 3; Введение в учение о митогенезе. М., 1948; Die mitogenetische Strahlung. Jena, 1959.
Гурвич А. Г. и др. Учение о раковом тушителе. М., 1947.
Гурвич Л. Д. Pflug. Arch. ges. Physiol, 1922, 197, 1/2; Арх биол. наук, 1934, 35, 1.

Дорфман В. А., Сарафанов В. Protoplasma, 1932, 15, 4.
Дорфман В. А., Шмерлинг И. Protoplasma, 1938, 19, 2; Арх. биол. наук, 1934, 35, 1.
Еремеев В. Ф. Докл. АН СССР, 1940, 27, 8; В сб. работ по митогенезу и теории поля. 1947, Бюлл. эксп. биол. и мед., 1958, 5, 60, 1958, 6.
Залкинд С. Я. Arch. Entwickl. Mech., 1929, 115, 1—2 1931, 124, 2; Арх. биол. наук, 1934, 35, 1, Protoplasma, 1937, 29, 2, Цит. по А. Г. Гурвич, 1945. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1950; 29, 2. Докл. АН СССР, 1952, 87, 4.
Календаров Г. С. Pflug. Arch. ges. Physiol., 1932, 231, 2.
Каннегисер Н. Н. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1937, 3, 6; Анализ митогенетического излучения канцерогенных веществ. Дисс. М., 1949.
Кафиани К. А. В сб.: Ферменты, 1964.
Кузин А. М., Полякова О. И. В сб. раб. по митогенезу и теории биол. поля, М., 1947.
Латманизова Л. В. Ann. Physiol. Physicochim. biol., 1934, 10, 141; Pflug. Arch. ges. Physiol., 1932, 231, 265.
Липкинд М. А. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1958, 6, 65.
Мазиа. Митоз. М., 1964.
Малеева 3. В. Образование ферментоида уреазы за счет аминокислот. Дисс. Л., 1944, В сб. раб. по митогенезу и теории биол. поля. АМН, 1947, Цит. по А. Г. Гурвич, 1959.
Никаноров Б. Цит. по А. Г. Гурвич, 1945.
Орлова А. И. Цит. по А. Г. Гурвич, 1959.
Острый О. Я. Физиология и патология кровообращения. М., 1962.
Передельская Н. М. Докл. АН СССР, 1954, 99, 3.
Песоченский Б. С. Цит. по А. Г. Гурвич, 1945. Применение феномена тушения митогенетического излучения при раке и предраковом состоянии. Дисс. Л., 1942; В сб. раб. по митогенезу и теории биол. поля. М., 1947.
Пономарева Ю. Н. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1936, 2, 1, Арх. биол. наук, 1939, 55, 2; Цит. по А. Г. Гурвич, 1945.
Потоцкая А. П. Ann. Inst. Pasteur, 1936, 57, Protopl., 1936, 25.
Пухальская Е. Ч. В сб. раб. по митогенезу и теории биол. поля. М., 1947.
Рабинерсон А. И., Филиппов М. В. С. R. Acad. Sci., 1939, 208, 1.
Рабинерсон А. И., Владимирская М. А. Acta physicochim., USSR, 1939, 10, 6.
Рабинерсон А. И. Успехи совр. биол., 1940, 13, 3.
Розанова В. Д. Физиол. журн. СССР, 1938, 25, 202; 1941, 30.
Сафонов И. и др. Докл. АН СССР, 1964, 157, 1751.
Северцева Л. Б. Biol. Zbl., 1928, 49, Ann. Inst. Pasteur, 1931, 46.
Славина Н. С. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1958, 11; 3; 1959, 4.
Снешко Л. И. Роль селезенки в динамике образования ракового тушителя. Автореф. дисс. М., 1955.
Тарусов Б Н. и др. Радиобиология, 1961, 1, 150.
Тарусов Б. Н. и Журавлев А. И. Биолюминесценция. М., 1965.
Терновская Е. И. Цит. по А. Г. Гурвич, 1959.
Троицкий Н. А. и др. Биофизика, 1961, 86, 238.

Филиппов М. В. Acta Physicochim. USSR, 1939, 10, 725.
Франк Г. М. С. R. Acad. ScL, 1927, 185.
Франк Г. М. Гурвич А. Г. Arch. f. Entwickl. Mech., 1927, 109.
Франк и Родионов С. Ф. Naturwiss., 1931, 30, 659.
Четвериков А. Физиол. журн. СССР, 1939, 11.
Хлебников Н., Меламид А. Е., Ковалева Т. А. Радиотехника и электроника, 1962, 7/3, 518.
Хрущев Г. K. Arch. Exp. Zellforsch., 1930, 9, 203; Арх. биол. наук, 1934, 35, 1.
Цанев Р. Г., Марков Г. Г. Биохимия клеточного деления. 1964.
Цоглина И. В. Арх. биол. наук, 1934, 35, 1.
Шабад Л. М. Экспериментальная онкология. М., 1947.
Шамарина Н. М. Цит. по А. Г. Гурвич, 1945.
Шершнев П. А. В сб. раб. по митогенезу и теории биол. поля. М., 1947.
Шуб Г. X. Цит. по А. Г. Гурвич, 1959.
Шуб Д. М. Цит. по А. Г. Гурвич, 1959.
Юделес А. Л. и др. Докл. АН СССР, 1943, 40, 3.
Audubert R., et Levy. C. R. Acad. ScL, 1935, 201, 236.
Auduberg R. Z. Angew. Chemie, 1938, 51, 153. Trans. Farad., Soc, 1939, 35 197
Barth H. Арх. биол. наук, 1934, 35, 1; Die Naturwiss, 1935, 688 Biochem. Z., 1936, 285, 311; Арх. биол. наук, 1937, 46, 1.
Barth H. a. Glasser O. Radiology, 1939, 33, 25.
Becher O. Med. Mschr., 1952, 10, Biol. ZbI., 1957, 76, 2.
Bucciante L. Arch. Entwickl. Mech., 1929, 115, 3.
Burnet M. Engzme, Antigen and Virus. Cambr. Univ. Press. 1958
Colli, Facchini a. Rossi. Nuovo-Cimento, 1954, 12, 1, 150.
Commoner B., Townsend a. Pake. Nature, 1954, 174, 4432.
Commoner В. Горизонты биохимии. М., 1964.
Commoner В. CHn. Pharmacol. Theurap., 1965, 6, 3.
Dean A. a. Hinshelwood C. Nature, 1963, 199, 4888.
Fessard A. E. Brain Mechanismus and Consciousness. Oxford, 1954.
Frankenburger. Strahlentherapie, 1933, 47, 233.
Friedrich W. u. Schreiber H. Biochem. Z., 1930, 227, 386.
Grebe, Krost u. Peukert. Strahlentherapie, 1937, 60, 575.
Hollaender A. a. Klaus W. Bull, of Nat. Res. Council., 1937, 100, 1.
Kreuchen a. Bateman. Protoplasma, 1934, 22, 243.
Lashley K. S. Brain Mechanismus and Consciousness. Oxford, 1954.
Lorenz E. J. Geh. Phys., 1934, 17, 843.
Magrou J. et Magrou M. Ann. Sc. Nat, 1931, 10, 149; C. R. Soc. Biol., 1936, 121, 801.
Pauling L. Nature, 1948, 161, 707.
Pollock M. Brit. J. exp. Path., 1950, 31, 739.
Rahn O. Invisible Radiation of Organism. 1936, 1944.
Riley V. Science. 1960, 132, 544.
Scherbaum O. Ann. Rev. Microbiol., 1960, 14.
Siebert W. u. Seffert. Biochem. Z., 1936, 287, 1—2, 1937, 289. 292, 1939, 301.
Sholl D. A. The Organization of the Cerebral Cortex. London, 1956
Strehler. Arch, of Biochem. Biophys., 1951, 34, 2.
Weiss P. Biol. Rev., 1936, 11.
Wolff L. Acta Brevia Need., 1931, 1, 7.

Problem of mitogenetic **radiation** as aspect **of molecular biology by** *Gurvitch A. A.*

The monograph deals with main facts on mitogenetic radiation discovered by Professor A. G. Gurvitch in 1923.

A special chapter is devoted to the mechanism of radiation origination based on recombination of free radicals. The energy emanated from these reactions excites molecules of the substrate and is manifested in radiation with spectrums specific for the given matters.

The subsequent chapters treat the biological significance of the radiation illustrated with different phenomena of physiologic and pathologic character. Mitogenetic radiation is indispensable link in the chain of processes leading the cell to division, it precedes first phases of mitosis and can be registered in cells dividing synchronously in the form of a «premitotic» flash. So, the energetic role of photons of the mitogenetic radiation in the process of cellular division of normal and malignant tissues is very significant.

The spectral analysis of the mitogenetic radiation is a delicate indicator of functional states of nervous and muscular systems cardiac muscle including. The spectrums characterize some structural and energetic parameters of the molecular substrate and help to understand the connection of labile molecular structures of the substrate with functional states.

The monograph deals with A. G. Gurvitch's conception of the unbalanced ordered state of the molecular substrate specific for living systems. Considerable attention is paid to general biological ideas of A. G. Gurvitch leading to this conception and to the theory of biological field. These biological conceptions lead to the necessity of analysis of biological phenomena from the point of view of continuous combined interaction of different levels such as systematic, cellular and molecular which is proved by different facts. So the problem of mitogenesis can be considered one of the principal directions of molecular biology.

The state of excitation of nervous and muscular systems is analysed from this point of view, while the structural states of molecular substrate are considered as the basis of regulation of metabolic processes.

The book contains principal materials characterizing «cancer extinguisher» of mitogenetic radiation which example shows practical importance of theoretic and experimental researches of the mitogenetic problem.

The book contains 51 tables and 35 pictures, the reference list contains 108 entries.

ОГЛАВЛЕНИЕ

АННА АЛЕКСАНДРОВНА ГУРВИЧ

Проблемы митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии

Редактор Т. И. Загребельная
Переплет художника Н. И. Васильева
Художественный редактор А. И. Приймак
Технический редактор Т. И. Бугрова
Корректор Т. Е. Макарова

Сдано в набор 20/11 1968 г. Подписано к печати 27/VI 1963 г. Формат бумаги 84x108 1/32. Бум. л. 3,7). Печ. л. 7,5. Условных л. 12,6. Учетно-изд. л. 12,79. Тираж 4100 экз. ЛН-71. М-21655. Заказ № 1119. Цена 1 р. 46 к. Бумага типогр. № 1.

Издательство „Медицина", Ленинградское отделение. Ленинград, Д-104, ул. Некрасова, д. 10.

Ленинградская типография № 2 имени Евгении Соколовой Главполиграфпрома Комитета по печати при Совете Министров СССР. Измайловский проспект, 29.